



Società Italiana dell'Osteoporosi
del Metabolismo Minerale
e delle Malattie dello Scheletro

SYLLABUS 2015

**Attualità e nuove prospettive
dei farmaci utilizzati
nel trattamento dell'osteoporosi**

SYLLABUS 2015**SIOMMMS**

Società Italiana dell'Osteoporosi del Metabolismo Minerale e delle Malattie dello Scheletro.

Sede Legale

P.zza L. Scuro - Borgo Roma - 37100 Verona

www.siommmms.it

Editore**MedicalStar**

Via San Gregorio, 12 - 20124 Milano

info@medicalstar.it

www.medicalstar.it

Progetto grafico**Francesca Bezzan**

www.franbe.it

Tutti i diritti sono riservati. Nessuna parte di questa pubblicazione può essere riprodotta, memorizzata in sistemi di recupero o trasmessa in qualsiasi forma o attraverso qualsiasi mezzo elettronico, meccanico, mediante fotocopiatura, registrazione o altro, senza l'autorizzazione della SIOMMMS.

INDICE**I CRITERI PER LA SOGLIA D'INTERVENTO FARMACOLOGICO**

Marco Di Monaco

9

TERAPIA COMBINATA E SEQUENZIALE DELL'OSTEOPOROSI

Vania Braga

13

ATTUALI INDICAZIONI ALL'UTILIZZO DEL DENOSUMAB

Chiara Banti, Filomena Cetani

26

VITAMINA K E SALUTE DELLO SCHELETRO

Roberta Cosso, Alberto Falchetti

34

IL TERIPARATIDE NEL TRATTAMENTO DELLE FRATTURE

Luca Pietrogrande, Emanuela Raimondo

54

OSTEONECROSI DEI MASCELLARI: RUOLO DEL TERIPARATIDE

Ombretta Di Munno

61

L'APPLICAZIONE DELLE NUOVE TECNOLOGIE PER LA SCOPERTA DI NUOVI FARMACI PER L'OSTEOPOROSI

Luigi Gennari, Daniela Merlotti

73

I NUOVI FARMACI

Andrea Giusti, Alfredo Nardi, Lorenzo Ventura

77

Accessibile

CONTIENE

eccellenza, specializzazione, qualità,
lealtà, responsabilità, collaborazione.



ABIOPEN
PHARMA



LA NOSTRA IDEA DI FARMACO.

Siamo un'azienda italiana dai sani principi. Abbiamo scelto, in modo responsabile, di creare valore puntando sulla competenza e sulla specializzazione, per offrire soluzioni terapeutiche di **eccellenza a costi accessibili**. Perché il maggior numero di persone possa trarne beneficio.



ABIOPEN
PHARMA

Cari colleghi,

anche se con un po' di ritardo abbiamo portato a conclusione l'edizione 2015 del Syllabus.

Il filo conduttore di questa edizione sono i farmaci utilizzati nel trattamento dell'osteoporosi, di cui abbiamo voluto focalizzare aspetti di interesse e speriamo di utilità nell'immediato e in un futuro non poi così remoto.

Fra gli argomenti sono stati trattati i criteri per la soglia di intervento farmacologico, alla luce degli algoritmi resi disponibili per la valutazione del rischio individuale di frattura a 10 anni come il FRAX e il DeFra, che rappresenta il derivato italiano del FRAX, sotto alcuni aspetti più analitico e specifico.

Si è affrontata anche la possibilità di terapie sequenziali e di combinazione, con farmaci caratterizzati da differenti meccanismi d'azione (antiriassorbitivi, anabolici) e da differenti targets (anticorpi anti-RANKL); la terapia sequenziale permette anche di ridurre il rischio di complicanze come l'osteonecrosi dei mascellari e le fratture femorali atipiche, rischio peraltro molto basso e legato soprattutto all'esposizione prolungata (in genere oltre i 5 anni) ai farmaci antiriassorbitivi (bisfosfonati e denosumab). A tal proposito abbiamo ritenuto opportuno dedicare due contributi proprio a tali complicanze, portando i dati più recenti di patogenesi, incidenza e prevalenza, di reale rischio e di possibilità di un eventuale trattamento fino alla guarigione completa, con la speranza di fugare il terrorismo dilagante e ingiustificato su questi due aspetti.

Ci è sembrato utile anche fornire informazioni sull'importante ruolo della vitamina K nel metabolismo osteoscheletrico, vitamina che è stata per così dire offuscata dall'esplosione in questi ultimi anni di articoli sulla vitamina D.

Abbiamo approfondito inoltre le possibilità di utilizzo del denosumab, il farmaco di più recente ingresso nel mercato dell'osteoporosi postmenopausale e maschile, anche per il trattamento degli effetti scheletrici indotti da blocco ormonale adiuvante in entrambi i sessi, alla luce delle indicazioni della nuova Nota 79 del 20 maggio 2015.

Infine allungando lo sguardo verso le novità farmacologiche che nei prossimi anni modificheranno, sicuramente in positivo, l'approccio terapeutico della popolazione sempre più numerosa dei pazienti osteoporotici, ci è sembrato stimolante un breve approfondimento su come si arriva appunto a scoprire il "nuovo farmaco" e quali sono oggi le tecnologie disponibili.

Come già in passato, ci auguriamo che i contributi dei vari autori potranno esser utili ad arricchire la conoscenza soprattutto di quei colleghi che, per vari motivi, non hanno né il tempo né la possibilità di un aggiornamento in tempo reale. La SIOMMMS è divenuta negli ultimissimi anni una società più numerosa, che ha accolto un numero ragguardevole di nuovi iscritti, tutti sicuramente desiderosi di arricchire il loro bagaglio di conoscenze nell'ottica di una migliore e più completa gestione dei loro pazienti ed è anche a loro che è diretto il nostro impegno.

21 marzo 2016

Commissione Editoriale SIOMMMS 2014-2015

Vania Braga

Filomena Cetani

Marco Di Monaco

Alberto Falchetti

Luigi Gennari

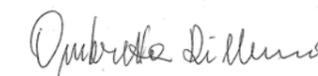
Luca Pietrogrande

Lorenzo Ventura

Coordinatore

Ombretta Di Munno

Ombretta Di Munno



Presidente SIOMMMS

Claudio Marcocci

Presidente SIOMMMS 2014-2015

Giancarlo Isaia

I CRITERI PER LA SOGLIA D'INTERVENTO FARMACOLOGICO

Marco Di Monaco

Fondazione Opera San Camillo, Presidio Sanitario San Camillo, Torino

Il tema dei criteri per la soglia di intervento farmacologico è stato affrontato esaminando e comparando le indicazioni fornite dalle principali linee guida pubblicate negli ultimi tre anni (2013-2015), limitatamente alle donne in postmenopausa (1-6). Il principio base che ispira i diversi criteri si riassume nel prescrivere farmaci per la prevenzione delle fratture solo ai soggetti che possono trarne beneficio. I criteri generali che discendono da questo principio sono due: prescrivere farmaci solo in presenza di un rischio assoluto di frattura elevato e prescrivere farmaci solo se il rischio elevato è sostenuto da fattori che hanno dimostrato di rispondere al trattamento farmacologico. I due criteri generali trovano diversa applicazione nelle diverse linee guida che proprio per questo, oltre che per la diversa considerazione di aspetti sociali legati al corretto utilizzo delle risorse in diversi Paesi, giungono a raccomandazioni in parte discrepanti.

1. CRITERI GENERALI PER DEFINIRE LA SOGLIA DI INTERVENTO.

- a. Il primo criterio generale consiste nella **presenza di un rischio assoluto di frattura elevato**. La ragione sta nel fatto che, a parità di efficacia di un farmaco nella riduzione del rischio relativo (RRR) di frattura, la riduzione del rischio assoluto (RRA) è maggiore ed il number needed to treat (NNT) è minore nei soggetti a rischio assoluto di frattura più elevato. Come esempio si pensi di trattare con un farmaco che dimezza il rischio di frattura una popolazione a basso rischio: se il rischio assoluto in assenza di trattamento è dell'1%, il farmaco lo riduce del 50% portandolo a 0.5%. Una RRR del 50% si traduce dunque in una RRA dello 0.5%. Se si somministra lo stesso farmaco ad una popolazione con un rischio di frattura elevato, supponiamo pari al 40% in assenza di trattamento, il farmaco lo riduce sempre del 50%, portandolo al 20%. La RRR del 50% si traduce in questo caso in una RRA del 20%. È facile calcolare che nel primo caso (popolazione a basso rischio di frattura) il NNT è pari a 200 (occorre trattare duecento pazienti per prevenire una frattura), mentre nel secondo caso è pari a 5 (basta trattare 5 pazienti per prevenire una frattura). Un NNT basso comporta due vantaggi fondamentali: il primo è un ridotto rapporto costo/beneficio. Supponendo che un trattamento farmacologico costi 200 euro l'anno, in caso di NNT pari a 200, il costo per prevenire una frattura è di $200 \times 200 = 40.000$ euro; viceversa in caso di NNT pari a 5, il costo per prevenire una frattura è $5 \times 200 = 1000$ euro. Il secondo vantaggio del NNT basso è il migliore rapporto rischio/beneficio. Supponendo che il farmaco comporti un evento avverso grave ogni 1000 trattamenti, se il NNT è pari a 200, si avrà un evento avverso grave ogni 5 fratture prevenute (rapporto rischio/beneficio discutibile). Viceversa se il NNT è pari a 5, si avrà un evento avverso ogni 200 fratture prevenute (rapporto rischio/beneficio soddisfacente).
- b. Il secondo criterio si basa sul **tipo di fattori di rischio di frattura presenti, distinguendoli sulla base della risposta alla terapia con farmaci**. In pratica il secondo criterio circoscrive il primo: non basta che il rischio assoluto di frattura sia elevato, è anche necessario che il rischio di frattura sia sostenuto da fattori che rispondono al trattamento. Non sempre infatti il

rischio elevato è sostenuto da fattori che rispondono all'intervento con farmaci. Come esempio estremo (per chiarire): i paracadutisti sono indubbiamente a rischio di frattura, ma non è con i farmaci per l'osteoporosi che il rischio si può ridurre. Uscendo dall'esempio estremo e considerando la pratica clinica, sono diversi i fattori che identificano un rischio di frattura elevato, ma la cui risposta ai farmaci non è nota. Esempi importanti sono le alterazioni ultrasonografiche ossee e le cadute.

2. APPLICAZIONE DEI PRINCIPI GENERALI NELLE LINEE GUIDA PUBBLICATE NELL'ULTIMO TRIENNIO.

- a. Le linee guida più stringenti nell'applicazione di entrambi i criteri generali di cui sopra sono quelle pubblicate nel 2015 dalla **Scottish Intercollegiate Guidelines Network (SIGN)**. Vengono individuate tre categorie di soggetti cui prescrivere farmaci per l'osteoporosi: soggetti con fratture vertebrali (cliniche o morfometriche) da fragilità; soggetti con fratture prossimali di femore da fragilità; soggetti in cui il rischio di frattura a dieci anni stimato in via preliminare senza densità minerale ossea risulta superiore al 10% e la densità minerale ossea (DMO) DXA al femore o al rachide risulta diagnostica per osteoporosi (T-score ≤ -2.5). Tutte e tre le categorie individuate hanno un rischio di frattura elevato. Per quanto riguarda la risposta ai farmaci, il trattamento nei soggetti con fratture vertebrali si giustifica per l'efficacia dimostrata da diversi farmaci in corso di RCT di prevenzione secondaria delle fratture in cui il criterio di inclusione era proprio la presenza di fratture vertebrali. Similmente, per i soggetti con frattura prossimale di femore, il trattamento si giustifica per i risultati del braccio del trial con zoledronato specificamente dedicato ai soggetti con frattura femorale (HORIZON Recurrent Fracture Trial). Più complessa risulta la giustificazione del terzo criterio. I bassi valori di DMO (T-score ≤ -2.5) sono stati ampiamente utilizzati per l'inclusione nei trial di prevenzione delle fratture con farmaci. Tuttavia, la rianalisi dei dati dei trial FIT (con alendronato) e FREEDOM (con denosumab) mostra che l'efficacia dei farmaci è stata dimostrata solo in presenza di un rischio complessivo di frattura a dieci anni non inferiore al 10-12% che è stato dunque adottato insieme alla ridotta DMO come criterio per l'indicazione ai farmaci.
- b. Le linee guida della **National Osteoporosis Foundation (NOF)** pubblicate nel 2013 indicano quattro categorie di soggetti da considerare per il trattamento: soggetti con fratture vertebrali (cliniche o morfometriche) da fragilità; soggetti con fratture prossimali di femore da fragilità; soggetti con osteoporosi (ridotta DMO a valutazione DXA lombare o femorale, con T-score ≤ -2.5); soggetti con osteopenia (riduzione di DMO DXA lombare o femorale, con T-score compreso tra -2.5 e -1) e rischio complessivo di frattura a dieci anni $\geq 20\%$ come rischio cumulativo per le 4 fratture principali, o $\geq 3\%$ per la sola frattura di femore. Da notare che il rischio di frattura viene stimato con l'algoritmo FRAX nella versione modificata per gli USA. Questa prevede come modifica principale rispetto al FRAX originale, il calcolo del rischio di frattura e non della probabilità di frattura (la probabilità comporta la correzione del rischio di frattura per il rischio di morte). Naturalmente, a parità di condizioni, il rischio di frattura è più alto della probabilità di frattura, e ciò è tanto più vero quanto più è elevato il rischio di morte a dieci anni come accade in presenza di età avanzata o di specifici predittori di mortalità come il fumo o un elevato indice di massa corporea.
- c. Secondo le linee guida della **Society of Obstetricians and Gynaecologists of Canada (SOGC)** del 2014, il trattamento con farmaci è indicato con chiarezza in un'unica cate-

ria di soggetti: quelli con rischio di frattura a 10 anni $>20\%$. Può essere invece discusso e consigliato caso per caso quando il rischio di frattura a dieci anni è compreso tra il 10% ed il 20%. Per la stima del rischio di frattura viene utilizzato l'algoritmo FRAX o in alternativa lo strumento proposto dalla Canadian Association of Radiologists and Osteoporosis Canada. Queste linee guida considerano dunque solo il primo dei due criteri generali: consigliano il trattamento in presenza di rischio di frattura elevato, ma non tengono conto della natura dei fattori che determinano il rischio.

- d. Le linee guida della **European Society for Clinical and Economic aspects of Osteoporosis and Osteoarthritis (ESCEO)** pubblicate nel 2013 non forniscono soglie precise per ricorrere al trattamento con farmaci per l'osteoporosi. Raccomandano la valutazione del rischio di frattura a 10 anni mediante l'algoritmo FRAX, ma ritengono che la soglia di rischio che giustifica l'intervento debba essere decisa in modo autonomo nelle singole nazioni, tenendo conto di fattori che variano nei diversi Paesi, come il costo dei farmaci, il rischio assoluto di frattura, le politiche sanitarie, o l'accessibilità alla densitometria ossea. Fatta salva l'autonomia di ogni Paese, le linee guida non si esimono dal proporre una soglia per l'indicazione al trattamento con farmaci che coincide con il livello di probabilità di frattura a 10 anni che ha una donna di una data età che subisca una prima frattura da fragilità. Naturalmente questo criterio conduce ad una soglia variabile con l'età: la probabilità di frattura a 10 anni nel momento della prima frattura è più alta per una donna anziana rispetto ad una donna giovane. Si giunge così, in modo apparentemente discrepante con il principio generale di stabilire la soglia di trattamento in relazione alla probabilità assoluta di frattura, a giustificare il ricorso a farmaci per l'osteoporosi in donne giovani in caso di probabilità di frattura modesta e a tollerare che una probabilità di frattura elevata non conduca al trattamento in donne anziane. Anche queste linee guida, come quelle della SOGC, non considerano il secondo dei due criteri generali: consigliano il trattamento in presenza di rischio di frattura elevato, ma non tengono conto della natura dei fattori che determinano il rischio. Introducono inoltre una soglia di rischio diversa a seconda dell'età.
- e. Le linee guida inglesi del **National Osteoporosis Guideline Group (NOGG)** pubblicate nel 2013, suggeriscono lo stesso criterio proposto dalle linee guida ESCEO.
- f. Le linee guida **SIOMMMS (Società Italiana dell'Osteoporosi, Metabolismo Minerale e Malattie dello Scheletro)** sono state redatte a fine 2015 (dopo la stesura del presente contributo). In sintesi, propongono l'utilizzo dell'algoritmo "Derived Fracture Risk Assessment" o DeFRA (disponibile on-line: <http://defraosteoporosi.it>) per la stima della probabilità di frattura. Il DeFRA "consente di garantire un razionale ed omogeneo approccio diagnostico e terapeutico dell'osteoporosi, adattato in particolare alla realtà italiana e ai criteri definiti dall'AIFA per giudicare l'opportunità o meno di un intervento farmacologico. Consente inoltre una stratificazione del rischio di frattura che può essere utilizzata nella scelta del trattamento farmacologico più opportuno, insieme ad altri criteri quali la safety, il rapporto costo/efficacia, le prospettive di aderenza ed il razionale fisiopatologico". Viene precisato che il DeFRA va considerato uno strumento in continuo divenire, in relazione a nuovi dati disponibili anche proprio grazie all'uso del DeFRA nella pratica clinica.

BIBLIOGRAFIA

1. Scottish Intercollegiate Guideline Network (SIGN), 2015. Management of osteoporosis and the prevention of fragility fractures. <http://sign.ac.uk/guidelines/fulltext/142/index.html>.
2. National Osteoporosis Foundation. Clinician's guide to prevention and treatment of osteoporosis. Washington, DC: National Osteoporosis Foundation; 2014.
3. Society of Obstetricians and Gynaecologists of Canada (SOGC) Clinical Practice Guidelines. Osteoporosis in menopause. J Obstet Gynaecol Can 2014;36(9 eSuppl C):S1–S15.
4. Kanis JA, McCloskey EV, Johansson H, Cooper C, Rizzoli R, Reginster JY on behalf of the Scientific Advisory Board of the European Society for Clinical and Economic Aspects of Osteoporosis and Osteoarthritis (ESCEO) and the Committee of Scientific Advisors of the International Osteoporosis Foundation (IOF). European guidance for the diagnosis and management of osteoporosis in postmenopausal women. Osteoporos Int 2013;24:23-57.
5. Compston J, Bowering C, Cooper A, Cooper C, Davies C, Francis R, Kanis JA, Marsh D, McCloskey EV, Reid DM, Selby P; National Osteoporosis Guideline Group. Diagnosis and management of osteoporosis in postmenopausal women and older men in the UK: National Osteoporosis Guideline Group (NOGG) update 2013. Maturitas 2013;75:392-6.
6. Società Italiana dell'Osteoporosi, Metabolismo Minerale e Malattie dello Scheletro (SIOMMMS). Linee guida 2015 per la diagnosi, prevenzione e terapia dell'osteoporosi. www.siommmms.it

TERAPIA COMBINATA E SEQUENZIALE DELL'OSTEOPOROSI**Vania Braga**

Centro Osteoporosi, Azienda ULSS20 Verona

PREMESSE

L'FDA ha approvato l'associazione di più farmaci per la maggior parte delle malattie croniche fatta eccezione per l'osteoporosi, dove il trattamento è limitato ad un singolo farmaco somministrato a dose fissa e a determinati intervalli.

Attualmente risultano disponibili due grandi categorie di farmaci: l'ampio gruppo degli inibitori del riassorbimento comprendente i bisfosfonati (BP), i modulatori selettivi degli estrogeni (SERMS) e l'anticorpo monoclonale anti-RANKL (Denosumab) che inibiscono l'attività osteoclastica agendo attraverso meccanismi cellulari differenti, e gli agenti anabolici, il ranelato e il teriparatide (TPDT) che promuovono la formazione ossea (1,2). L'utilizzo del teriparatide è stato limitato a due anni dalle autorità regolatorie ed è riservato ai pazienti con osteoporosi severa (3). Tutti questi farmaci hanno dimostrato globalmente la loro efficacia antifratturativa in numerosi studi randomizzati controllati anche di lunga durata, oltre i dieci anni come è per l'alendronato (4).

Figura 1. Reduction Relative Risk (RRR) for fracture

Drug	RRR vertebral fractures	RRR non-vertebral fractures	RRR hip fractures	RRR major osteoporotic
Alendronate	45%	23%	40%	31.8%
Risedronate	39%	20%	26%	25.9%
Strontium Ranelate	37%	14%	15% (NS)	19.9%
Teriparatide	65%	53%	35% (NS)	52.4%
Zoledronate	70%	24%	40%	38.7%
Denosumab	68%	20%	40%	36.0%

Figura 1.

Tuttavia nella grande maggioranza dei pazienti con osteoporosi conclamata, nessuna delle terapie finora approvate, è in grado di reintegrare lo scheletro. Questi farmaci infatti inducono complessivamente moderati aumenti di densità ossea (BMD), ma non risultano in grado di eliminare completamente il rischio di frattura (RF) **Figura 1**.

Il “rischio fratturativo residuo”, cioè il rischio che permane dopo che sono state applicate tutte le misure terapeutiche e di prevenzione disponibili per l’osteoporosi e, dopo che sono state escluse tutte le condizioni in grado di influenzare i risultati della terapia (inadeguati livelli di vitamina D o scarsa compliance), è da considerarsi a tutt’oggi ancora elevato. L’utilizzo inoltre nel lungo termine di questi farmaci appare ampiamente dibattuto (5) e l’impiego della terapia anabolica è limitato a un determinato periodo di tempo (6). Questo scenario ha aperto l’interrogativo se l’instaurare schemi terapeutici differenti, combinati e sequenziali, possa risultare più efficace della monoterapia, in particolare nei pazienti con osteoporosi severa ad elevato rischio di frattura.

1. EFFICACIA DELLA TERAPIA CON FARMACI AD EFFETTO ANABOLICO

Si può ottimizzare il potenziale anabolico del teriparatide?
Si possono prevedere benefici in termini di guadagno di massa ossea paragonabili a quelli ottenuti con la terapia giornaliera, nei pazienti che sono in terapia ciclica con teriparatide e nel contempo assumono inibitori del riassorbimento?

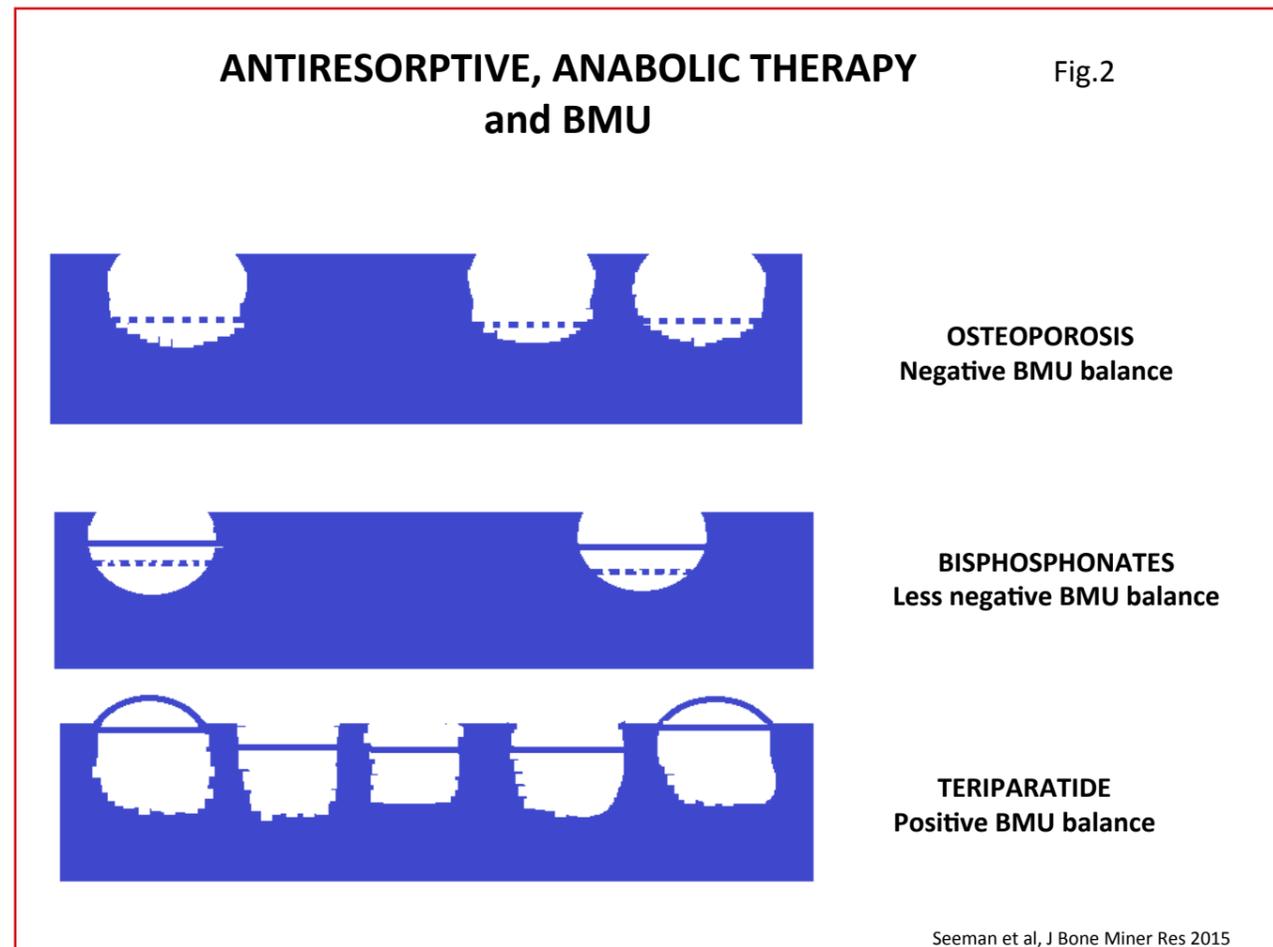


Figura 2.

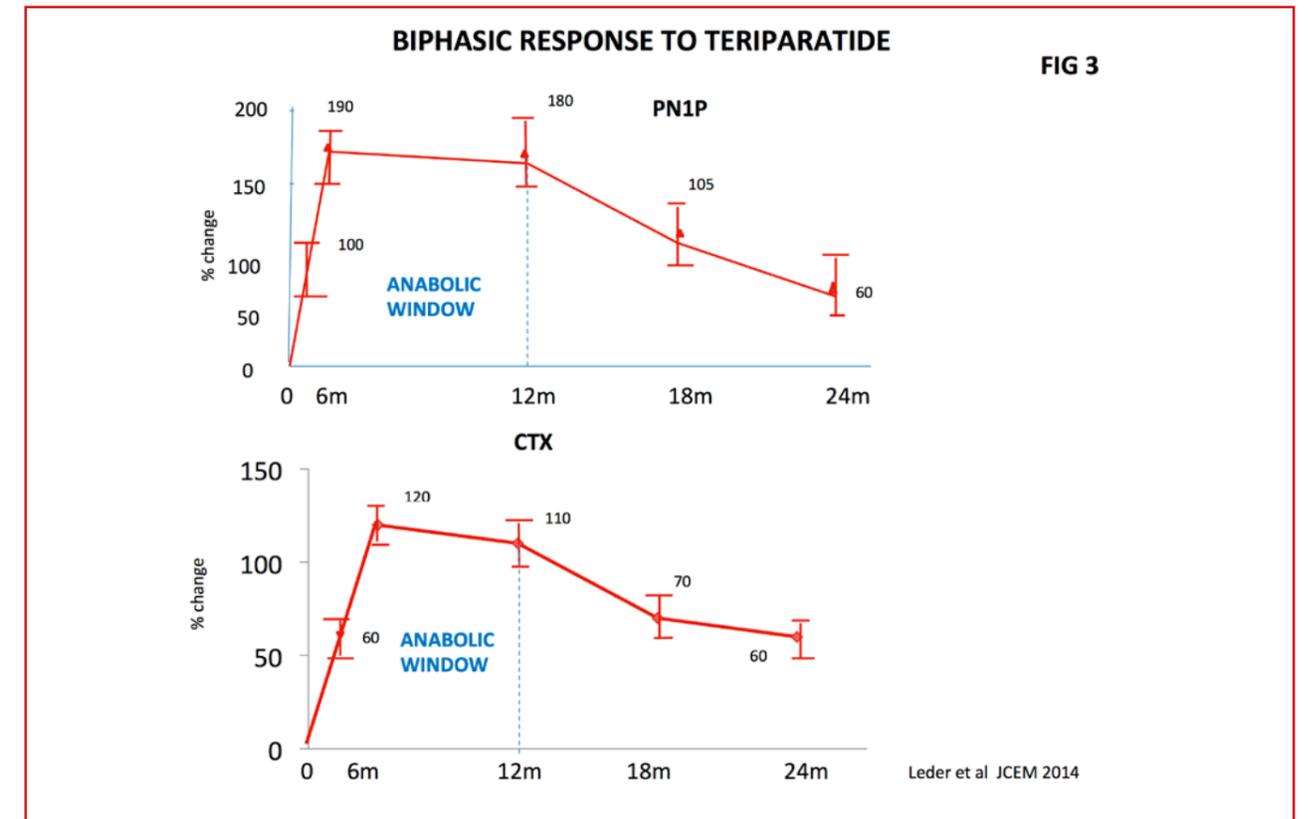


Figura 3.

È noto che la somministrazione giornaliera a basse dosi con farmaci anabolici come il paratormone o il teriparatide (TPTD), stimola la neoformazione ossea da parte degli osteoblasti (modeling) e il rimodellamento osseo (remodeling), con il risultato finale di un bilancio osseo positivo che si concretizza in aumento della massa ossea (BMD), miglioramento dell’architettura dello scheletro, miglioramento della resistenza dell’osso e riduzione del rischio di frattura (2, 3, 7-11) **Figura 2**. Inoltre con l’avanzare dell’età si riduce la formazione dell’osso periostale e, mentre i bisfosfonati non sembra possano modificare l’attività cellulare a livello della superficie periostale, il paratormone potrebbe invece esercitare uno stimolo positivo a livello di periostio ed endostio.

Effetto del teriparatide sugli indici di turnover osseo (marker di turnover) **Figura 3**.

È noto che la risposta alla somministrazione del TPDT in termini di variazione degli indici del turnover osseo è bifasica. Si osserva inizialmente un rapido (entro pochi giorni o settimane dall’inizio della terapia), ed esuberante aumento degli indici di neoformazione. I livelli ematici dei marker generalmente raggiungono il picco entro un anno (anabolic window) e poi cominciano a calare subito dopo, nonostante la continuazione della terapia (11).

Più tardivamente dopo almeno un mese dalla terapia, si assiste anche all’aumento dei livelli degli indici di riassorbimento osseo, che comunque anch’essi una volta raggiunto il picco a un anno, iniziano poi a calare durante il secondo anno in corso di trattamento, con un andamento analogo a quello dei marcatori della neoformazione (11).

Effetto del teriparatide sulla massa ossea (BMD)

Nei primi sei mesi di terapia con il TPDT, in concomitanza con l’aumento dei marker di turnover si assiste ad un altrettanto rapido incremento densitometrico (BMD) a livello della colonna lombare. Gli

studi istomorfometrici condotti a livello della cresta iliaca confermano che dopo sei mesi dall'inizio del trattamento vi è una drammatica stimolazione della neoformazione e del rimodellamento ossei (12). Dopo 18-36 mesi a livello istologico non vi sono più evidenze di stimolazione della neoformazione o del rimodellamento, perlomeno a livello dell'osso trabecolare, probabilmente per un fenomeno di tachifilassi, associata alla somministrazione giornaliera del farmaco. Nel complesso tutti questi dati relativi all'effetto del teriparatide su marker biochimici, densità ossea e sui parametri istomorfometrici potrebbero rappresentare il razionale a intraprendere, in alternativa alla terapia giornaliera, un trattamento ciclico in grado di sfruttare principalmente le caratteristiche anaboliche del farmaco.

La stimolazione precoce e diretta della sola neoformazione ossea da parte del teriparatide, che si basa sul modeling (13), potrebbe essere più importante dell'attivazione tardiva del rimodellamento osseo, ai fini del massimo ottenimento finale dei livelli di BMD. Il vantaggio infatti deriverebbe dal fatto che un ciclo breve del TPDT potrebbe potenzialmente dissociare la fase dell'effetto anabolico precoce legato al modeling dall'effetto anabolico tardivo, derivante dal remodeling successivo, ottimizzando in questo modo tutto il potenziale anabolico del TPDT (Figura 3). Inoltre teoricamente solo cicli brevi e ripetuti di teriparatide potrebbero superare il fenomeno della tachifilassi, che si instaura dopo 6-15 mesi di terapia giornaliera.

I risultati degli studi indicano che un trattamento ciclico di due anni con il solo teriparatide (TPDT 3 mesi-on seguiti da TPDT 3 mesi-off) in pazienti naive (che non assumevano nel contempo alcuna terapia per l'osteoporosi), non risulta più vantaggioso in termini di massa ossea rispetto al trattamento giornaliero (14) figura 4. In effetti in questa condizione la dose complessiva di farmaco

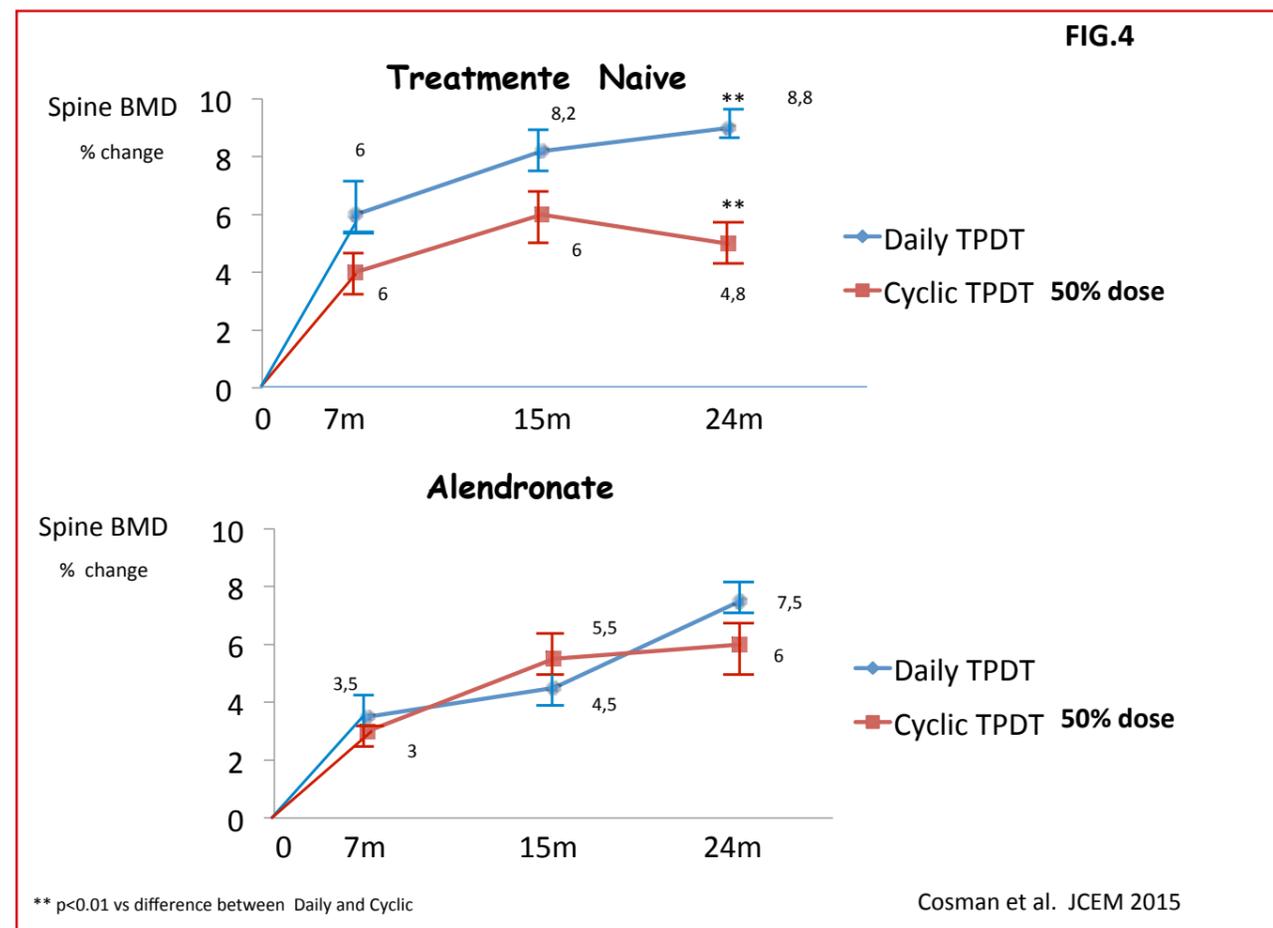


Figura 4.

somministrata è stata ridotta del 50%. Inoltre è verosimile ipotizzare che nella popolazione osteoporotica che non ha in corso alcuna terapia, durante il periodo in assenza del farmaco (TPDT 3 mesi-off), il riassorbimento osseo risulti superiore alla neoformazione, mitigando così il guadagno di massa ossea ottenuto con il farmaco nel ciclo precedente. A sostegno di ciò in questi pazienti trattati ciclicamente con il TPDT, il picco degli indici di neoformazione non raggiunge quasi mai lo stesso livello osservato nella popolazione in somministrazione giornaliera.

Il trattamento ciclico per due anni con il TPDT appare invece vantaggioso quando viene utilizzato nei soggetti che sono in terapia concomitante con l'alendronato, dove gli aumenti di massa ossea risultano paragonabili a quelli riscontrati nei soggetti in corso di terapia giornaliera con il teriparatide (14) Figura 4. In effetti i livelli dei marker di neoformazione raggiunti ad ogni ciclo di terapia appaiono sovrapponibili ai vari tempi a quelli osservati con la terapia giornaliera. Si può razionalmente ipotizzare che gli aumenti di massa ossea riscontrati nel gruppo in alendronato, possano derivare in parte anche dalla durata relativamente più prolungata, della mineralizzazione secondaria stimolata dai bisfosfonati somministrati in terapia combinata col teriparatide.

Studi precedenti riportano in maniera consistente con questi risultati che, cicli brevi con il teriparatide o il paratormone in corso di terapia con i bisfosfonati, consentono di ottenere aumenti di massa ossea inaspettati in relazione a una dose cumulativa del farmaco anabolico complessivamente inferiore (15).

Dunque la somministrazione ciclica della terapia anabolica con il teriparatide per due anni, nonostante il dosaggio cumulativo globale del farmaco sia stata dimezzata, sembrerebbe presentare vantaggi analoghi a quelli ottenibili con la terapia giornaliera se utilizzato in terapia combinata con alendronato orale. Questa interessante opzione potrebbe essere applicabile anche nei pazienti in trattamento con altri bisfosfonati.

2. COME OTTIMIZZARE LA TERAPIA CON FARMACI ANABOLICI E ANTIRIASSORBITIVI PER RAGGIUNGERE ULTERIORI BENEFICI NELL'OSTEOPOROSI?

Quali schemi terapeutici si possono adottare per ottenere i maggiori vantaggi?

In passato i tentativi di associare due agenti antiriassorbitivi non ha sortito effetti aggiuntivi significativi a livello di massa ossea (16). Apparve di scarso successo anche la somministrazione di farmaci anabolici in associazione ad inibitori del riassorbimento. Infatti in un primo tempo sembrò suggestiva l'idea di testare la superiorità della terapia combinata di un agente ad effetto anabolico somministrato giornalmente (Paratormone o TPDT), con bisfosfonati quali come alendronato, tiludronato o zoledronato sulla monoterapia (17,18,19,20).

In realtà i tentativi di questo tipo di terapia combinata non si dimostrarono più efficaci in termini di ottenimento di aumenti aggiuntivi di massa ossea in confronto all'utilizzo dei singoli farmaci. La somministrazione combinata di zoledronato e teriparatide anche se dopo le prime settimane sembrava superiore al teriparatide da solo, in quanto si osservavano continui aumenti dei valori di BMD a livello della colonna vertebrale, tuttavia il risultato finale dopo un anno non si concretizzò in una differenza significativa rispetto alla monoterapia (20). In maniera analoga anche la combinazione di paratormone con modulatori selettivi degli estrogeni come inibitori del riassorbimento,

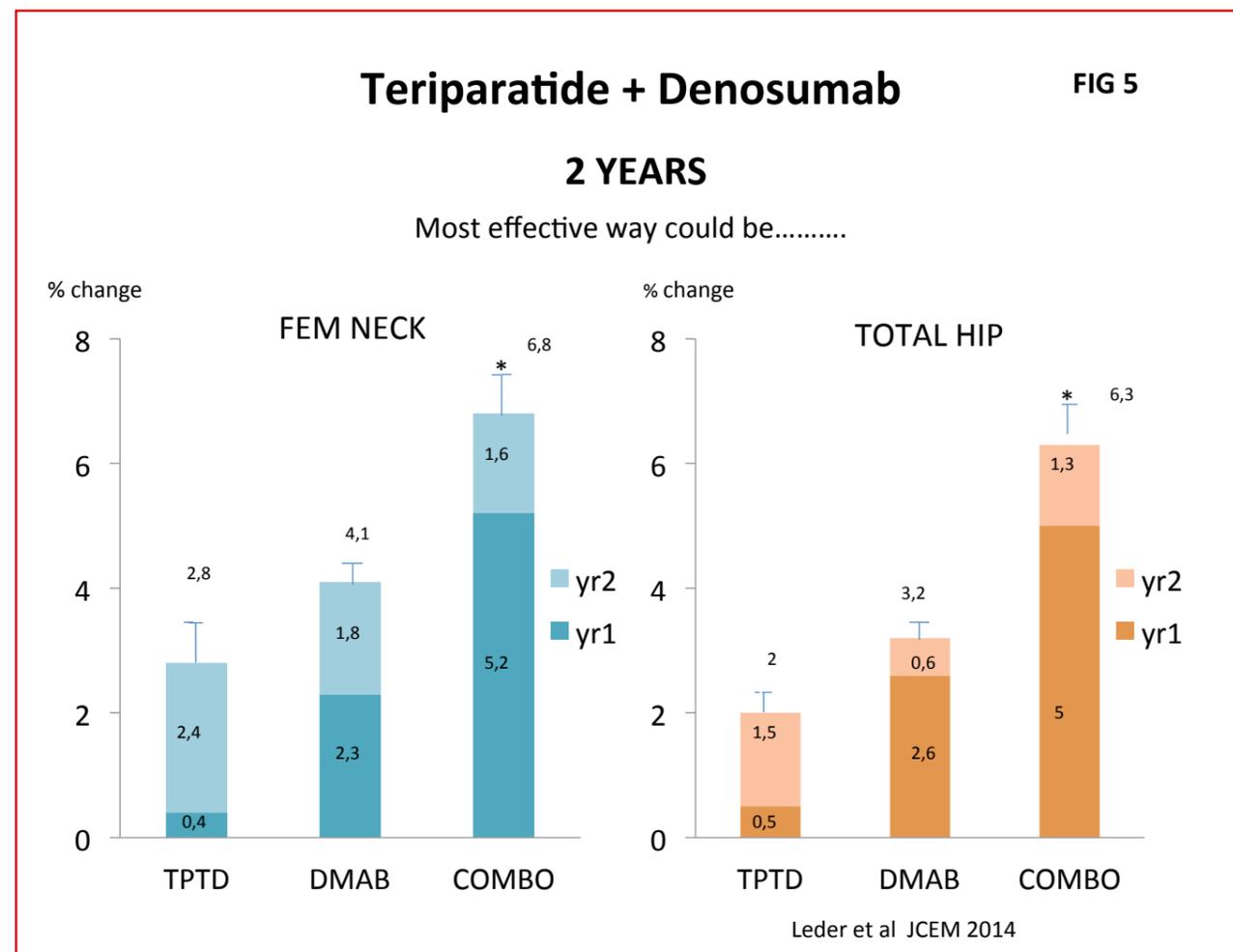


Figura 5.

non apparve apportare effetti aggiuntivi sulla massa ossea, superiori a quelli ottenuti con l'utilizzo dei singoli farmaci (21).

In contrasto con questi risultati, nel 2013 si dimostrò per la prima volta che la somministrazione combinata per un anno del TPDT e del denosumab, è in grado di apportare ulteriori aumenti di BMD sia a livello della colonna che del femore di entità superiore a quanto osservato sia con i due trattamenti assunti singolarmente che con qualsiasi altra terapia disponibile per l'osteoporosi (22). Si può fare l'ipotesi che i benefici aggiuntivi di questa terapia combinata ottenuti sulla massa ossea sia legata alla capacità del denosumab da un lato di inibire completamente il riassorbimento osseo e dall'altro di inibire ma soltanto in parte, la neoformazione ossea, due fenomeni entrambi indotti dal TPDT.

Questi risultati incoraggianti consentirono di proseguire gli studi e dopo due anni di questa terapia combinata farmaco anabolico-farmaco antiassorbitivo, si osservarono risultati sorprendenti in termini di BMD, sia a livello della colonna (+12,9%) che del femore (+6,8% collo del femore e del +6,3% femore totale), confermando aumenti di gran lunga superiori non solo a quelli ottenuti con i due farmaci, il teriparatide e il denosumab assunti singolarmente ma anche con qualunque altro farmaco approvato per l'osteoporosi e somministrato per la stessa durata di trattamento (11). **Figura 5**

Nello specifico appaiono estremamente importanti i risultati raggiunti a livello femorale, dove è

noto che l'effetto del teriparatide impiegato da solo, è sempre risultato apprezzabile comunque non prima del secondo anno di trattamento. La terapia combinata con il TPDT e il denosumab continuata per ulteriori due anni, ha dimostrato che i vantaggi in termini di BMD raggiunti dopo soltanto un anno, non solo non sono transitori, ma proseguono ancora con aumenti fino a +6,8% a livello del collo del femore e +6,3% a livello del femore totale (11), probabilmente in relazione a un effetto inibitorio complessivo sul riassorbimento osseo della terapia combinata raggiunto tra il primo e il secondo anno. **Figura 5**

Il limite di questi studi è rappresentato dal fatto che per valutare l'efficacia della terapia combinata, sia stato utilizzato come end-point lo studio delle variazioni dei livelli di BMD e non del numero delle fratture. In realtà uno studio avente come obiettivo la riduzione del rischio fratturativo, richiederebbe per essere realizzabile, un potere statistico adeguato e quindi un aumento del campione di gran lunga superiore a quello osservato. Tuttavia l'entità delle variazioni della massa ossea ottenute dopo due anni con la terapia combinata, appaiono così ampie in confronto a quelle derivanti dall'utilizzo della monoterapia (dell'ordine dal 3% al 5%), da apparire clinicamente significative e comunque surrogati affidabili, anche se non perfetti, in relazione alla riduzione delle fratture (23,24).

3. L'UTILIZZO DEI FARMACI PER L'OSTEOPOROSI NEL LUNGO TERMINE RAPPRESENTA UN PROBLEMA DIBATTUTO.

L'interruzione di entrambi i farmaci, il teriparatide e il denosumab, comporta un rapido e brusco calo della BMD. Quali schemi terapeutici si possono esplorare?

Nei pazienti affetti da osteoporosi severa identificati dalla nota 79 ad elevato rischio di frattura, è appropriato instaurare subito dopo l'interruzione del teriparatide e del denosumab, una terapia con farmaci inibitori del riassorbimento (6, 25).

La sospensione infatti della terapia anabolica con il teriparatide produce una rapida e progressiva perdita dei valori di BMD. Sulla base delle evidenze scientifiche si è creato un ampio consenso sulla necessità di iniziare subito dopo l'interruzione del farmaco, una terapia con inibitori del riassorbimento non solo per mantenere ma anche per potenziare i benefici acquisiti in termini di massa ossea (26, 27).

Relativamente al denosumab, i risultati derivanti dagli studi clinici randomizzati controllati hanno evidenziato che la sospensione del farmaco è seguita da un rapido rebound del turnover osseo, come evidenziato dalla risalita dei livelli dei marcatori ossei e dalla riduzione dei valori densitometrici, con verosimile conseguente impatto negativo sul rischio di frattura. Dalle acquisizioni più recenti emerge, in maniera sorprendente e inaspettata, che i pazienti che hanno assunto il denosumab come terapia antiassorbitiva e poi sono transitati al teriparatide, vanno incontro a un calo dei valori di massa ossea, che appare soltanto transitorio a livello della colonna e del femore, ma risulta progressivo al radio distale (28).

Studi precedenti sull'utilizzo prima dei bisfosfonati e successivamente del teriparatide, riportano ulteriori aumenti di densità nei vari siti scheletrici, sebbene di minore entità di quanto osservato quando teriparatide è somministrato ai pazienti naive, ovvero in quelli che non hanno mai utilizzato i bisfosfonati in passato. È verosimile ipotizzare che probabilmente i bisfosfonati rimangono per anni nella matrice ossea dopo la loro somministrazione, attenuando o inibendo aumenti del

turnover osseo stimolati dal teriparatide. In base agli studi disponibili la co-somministrazione dei bisfosfonati con l'agente anabolico ha condotto a sminuire gli incrementi densitometrici ottenuti con il paratormone da solo (17-20). Nella condizione di utilizzare il teriparatide dopo due anni di denosumab, anziché dopo bisfosfonati, era ragionevole pensare che il teriparatide potesse esplicare tutto il suo potenziale anabolico. In effetti dopo il denosumab i marker, espressione del turnover osseo, non solo risultano elevati, ma si assiste addirittura ad una iperstimolazione del turnover rispetto a chi fa il teriparatide de novo. Questo effetto esplosivo sugli indici di neoformazione e riassorbimento rilevato nei pazienti che hanno sospeso il denosumab, potrebbe spiegarsi con il fatto che il teriparatide si trova a stimolare un enorme pool di precursori degli osteoclasti, rimasti quiescenti nei pazienti in cui l'inibizione del RANKL si è mantenuta attiva per ben 2 anni.

Nel gruppo di pazienti invece in cui all'inverso una volta stoppato il trattamento con TPDT, è stato instaurato il passaggio al denosumab, si sono osservati continui e ulteriori aumenti in termini di BMD a livello di tutti i siti scheletrici esaminati.

L'aumento in termini di massa ossea ottenuto passando da un farmaco anabolico a un farmaco antiassorbitivo come il denosumab è consistente con l'andamento descritto negli studi riportati sull'utilizzo dei bisfosfonati dopo l'interruzione del teriparatide o del paratormone (26, 27).

Dallo studio di Leder pubblicato sul Lancet nel 2015 emerge anche che gli aumenti della BMD raggiunti alla fine dei quattro anni a livello della colonna, risultano superiori nei pazienti trattati prima col solo teriparatide rispetto a quelli osservati nei pazienti in terapia combinata teriparatide/denosumab (28). Questi risultati potrebbero essere messi in relazione all'instaurarsi di un meccanismo di dissociazione relativa della durata di qualche mese, tra la neoformazione e il riassorbimento ossei. Infatti nel passaggio dal TPDT al denosumab, i valori serici del C-telopeptide serico (CTX) quale indice di riassorbimento osseo, appaiono più rapidamente soppressi di quelli dell'osteocalcina, quale marker di neoformazione ossea, e l'andamento dei marker risulterebbe a favore di un aumento finale dei valori di massa ossea.

Dallo stesso studio emergono altri dati aggiuntivi finora mai esplorati. Infatti la terapia combinata di due anni con teriparatide/denosumab seguita dal denosumab per altri due anni, ha consentito di ottenere ulteriori aumenti densitometrici anche a livello del femore e del polso, che rappresentano i siti scheletrici dove è più alta la proporzione di osso corticale, consentendo benefici più favorevoli a livello corticale, che finora non erano mai stati osservati con nessun'altra terapia somministrata per la stessa durata (28). Anche in questo caso appare verosimile ipotizzare l'origine da uno sbilanciamento osservato nel primo anno di terapia tra riassorbimento e neoformazione ossei a favore di quest'ultima. Questi risultati assumono particolare rilievo in quanto gli studi riportano l'importanza del ruolo dell'osso corticale nel mantenimento dell'integrità scheletrica e di conseguenza della resistenza dell'osso (29-30).

Sebbene non vi siano studi di confronto condotti su altre popolazioni, in ogni caso i guadagni in termini di massa ossea ottenuti sia con la terapia combinata con teriparatide/denosumab che con la terapia sequenziale teriparatide seguito da denosumab, appaiono di gran lunga superiori a quelli osservati con i singoli farmaci e con qualunque altra terapia approvata per l'osteoporosi e somministrata per la stessa durata temporale. Con quattro anni di terapia si sono ottenuti aumenti densitometrici fino al 18% a livello della colonna e fino al 9% a livello del femore, quando gli aumenti maggiori in termini di massa ossea finora registrati con il solo denosumab o con il solo zoledronato somministrati per quattro anni, appaiono inferiori al 12% alla colonna e meno del 6% a livello del femore.

Teriparatide, Denosumab, Combination therapy and Microarchitecture FIG 6

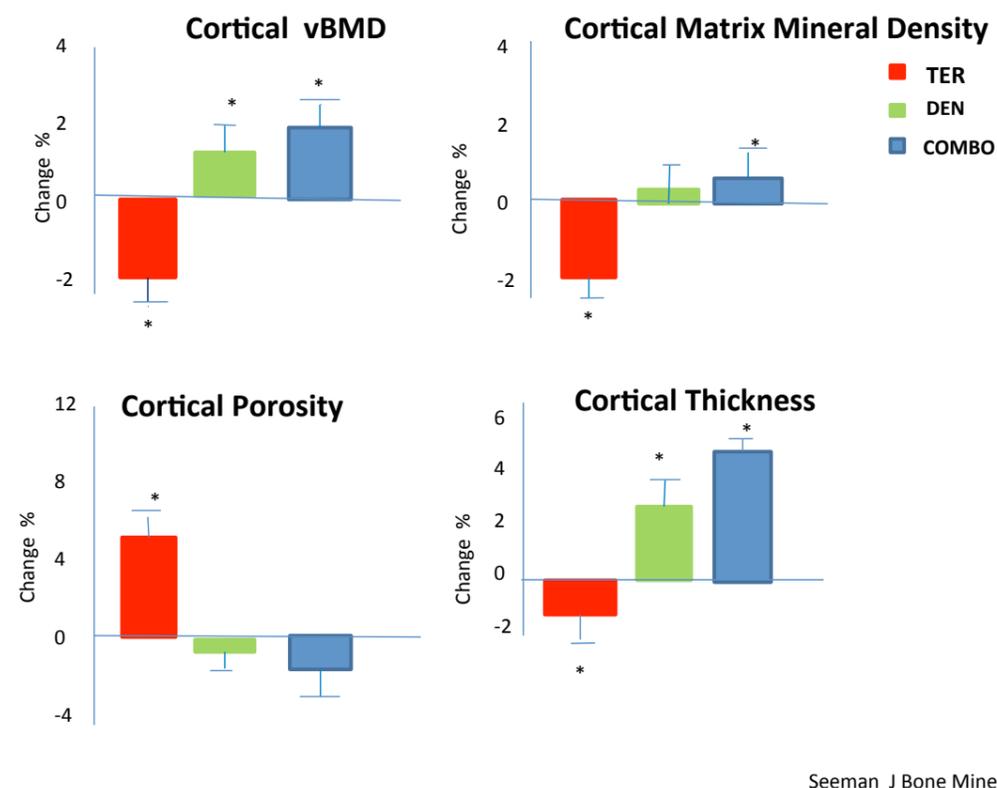


Figura 6.

Un limite riconoscibile a tutti gli studi finora riportati sulle terapie combinate e sequenziali è il fatto che l'end-point è rappresentato dalla valutazione degli incrementi della massa ossea con la sola densitometria ossea computerizzata (DXA). Occorrerebbe esplorare la possibilità di utilizzo di altre tecniche di misurazione dell'efficacia antifratturativa di questi nuovi approcci terapeutici a livello della composizione e della resistenza dell'osso. Infatti è stato osservato che i vari schemi terapeutici si possono associare a variazioni degli indici morfologici dell'osso. La terapia combinata con il teriparatide/denosumab a livello dell'osso corticale aumenterebbe la massa ossea volumetrica (cortical vBMD), la matrice minerale e la cortical thickness, tutte modificazioni che non sono spiegate dalle variazioni riportate con i singoli trattamenti (31,32). Infatti il denosumab non aumenta la matrice minerale, e il teriparatide o il paratormone sembrano addirittura associarsi a un calo della cortical vBMD, della cortical thickness, e ad un incremento della porosità corticale (Figura 6). In realtà l'aumento di quest'ultimo parametro potrebbe essere soltanto il risultato di una sostituzione dell'osso mineralizzato con osso osteoide più giovane, non identificabile e quindi non quantificabile a causa di una ridotta risoluzione tecnica dell'analisi. L'aumento dei valori della (cortical vBMD) e della cortical thickness potrebbero in realtà derivare dall'effetto positivo sulla mineralizzazione secondaria favorito dal denosumab.

Questi dati interessanti, aprono a un campo di indagini estremamente suggestivo nell'osteoporosi ed evidenziano la necessità di ulteriori studi per valutare gli effetti dei nuovi schemi terapeutici sulle caratteristiche microstrutturali e qualitative dell'osso, sia a livello trabecolare che corticale (33).

4. CONCLUSIONI

Il paziente con osteoporosi conclamata è ad elevato rischio di frattura o di rifrattura, ed è candidato ad essere sottoposto ad una terapia specifica per diversi anni.

Generalmente nella pratica clinica la terapia è limitata ad un singolo farmaco che viene somministrato a dosaggi e a frequenze fisse. Il trattamento a lungo termine dell'osteoporosi risulta tuttora dibattuto.

Gli studi precedenti condotti con la terapia combinata del teriparatide e dei bisfosfonati riportano risultati complessivamente negativi o solo modestamente positivi in termini di aumenti di massa ossea.

Dai risultati derivanti dalle ultime evidenze scientifiche, risulta invece che la terapia sequenziale o di combinazione con il teriparatide e il denosumab, si rivela superiore anche nel lungo termine alla monoterapia.

Sebbene non vi siano studi di confronto condotti su altre popolazioni i guadagni in termini di massa ossea ottenuti sia con la terapia combinata che con il teriparatide seguito dal denosumab, appaiono superiori a quelli osservati con qualunque altra terapia approvata per l'osteoporosi e somministrata per la stessa durata temporale. Nello specifico il denosumab parrebbe stabilizzare e ulteriormente incrementare la massa ossea se somministrato dopo l'agente anabolico.

All'inverso passando da un antirassorbitivo come il denosumab al TPDT, il teriparatide non sembra prevenire in maniera adeguata la perdita di massa ossea.

L'end-point di tutti gli studi clinici fin qui realizzati sia per la terapia sequenziale che per la combinata, si basa sulle variazioni della massa ossea (BMD). Attualmente non sono disponibili dati di efficacia degli stessi farmaci con le stesse modalità di somministrazione sulla riduzione del rischio di frattura. In ogni caso la BMD, sulla base delle evidenze scientifiche, risulta il fattore predittivo più affidabile dell'efficacia antifratturativa nei pazienti trattati con i farmaci dell'osteoporosi, compresi il teriparatide e il denosumab. Questi risultati dunque sono alla base del razionale scientifico per trattare nella maniera più appropriata e più conveniente in termini di costo-efficacia i pazienti in particolare con osteoporosi severa.

5. RACCOMANDAZIONI

In base alle più recenti evidenze scientifiche per un approccio razionale e conveniente in termini di costo-efficacia in particolare nell'osteoporosi a più elevato rischio di frattura, occorre valutare altre possibilità terapeutiche, oltre alla monoterapia consolidata.

L'utilizzo di terapie sequenziali o combinate con più farmaci anabolici-antirassorbitivi si è dimostrato superiore alla monoterapia relativamente agli aumenti di massa ossea sia a livello della colonna che del femore.

È emersa anche una priorità di somministrazione farmaco anabolico-farmaco antirassorbitivo al fine di ottenere i maggiori benefici densitometrici e avere un impatto significativo sull'efficacia complessiva del trattamento.

Si assiste a maggiori incrementi della massa ossea quando si inizia con la somministrazione per due anni di un agente anabolico (teriparatide) o di una terapia combinata anabolico-antirassorbitivo

(teriparatide e denosumab). Successivamente andrebbe considerata una terapia sequenziale per ulteriori due anni con denosumab, che si associa ad ulteriori aumenti di massa ossea, superiori a quelli riportati con qualunque altra singola terapia disponibile per l'osteoporosi e somministrata per la stessa durata.

BIBLIOGRAFIA

1. Crandall CJ, Newberry SJ, Diamant A, et al. Comparative effectiveness of pharmacologic treatments to prevent fractures: an updated systematic review. *Ann Intern Med* 2014;161:711-23.
2. McClung MR, San Martin J, Miller PD, et al. Opposite bone remodeling effects of teriparatide and alendronate in increasing bone mass. *Arch Intern Med*. 2005;165(15):1762-1768.
3. Neer RM, Arnaud CD, Zanchetta JR, et al. Effects of parathyroid hormone (1-34) on fractures and bone mineral density in postmenopausal women with osteoporosis. *N Engl J Med*. 2001;344(19):1434-1441.
4. Whitaker M, Guo J, Kehoe T, Benson G. Bisphosphonates for osteoporosis – where do we go from here? *N Engl J Med* 2012;366:2048-51.
5. Black DM, Bauer DC, Schwartz AV, Cummings SR, Rosen CJ. Continuing bisphosphonate treatment for osteoporosis—for whom and for how long? *N Engl J Med* 2012;366:2051-53.
6. Leder BZ, Neer RM, Wyland JJ, Lee HW, Burnett-Bowie SM, Finkelstein JS. Effects of teriparatide treatment and discontinuation in postmenopausal women and eugonadal men with osteoporosis. *J Clin Endocrinol Metab* 2009;94:2915-21.
7. Cosman F, Nieves J, Woelfel L, et al. Parathyroid hormone added to established hormone therapy: effects on vertebral fracture and maintenance of bone mass after parathyroid hormone withdrawal. *J Bone Miner Res*. 2001;16(5):925-931.
8. Cosman F, Nieves J, Zion M, Woelfel L, Luckey M, Lindsay R. Daily and cyclic parathyroid hormone in women receiving alendronate. *N Engl J Med*. 2005;353(6):566-575.
9. Cosman F, Wermers RA, Recknor C, et al. Effects of teriparatide in postmenopausal women with osteoporosis on prior alendronate or raloxifene: differences between stopping and continuing the antiresorptive agent. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009;94(10):3772-3780.
10. Lindsay R, Nieves J, Formica C, et al. Randomised controlled study of effect of parathyroid hormone on vertebral-bone mass and fracture incidence among postmenopausal women on oestrogen with osteoporosis. *Lancet*. 1997;350(9077):550-555.
11. Leder BZ, Tsai JN, Uihlein AV, et al. Two years of denosumab and teriparatide administration in postmenopausal women with osteoporosis (The DATA Extension Study): a randomized controlled trial. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014;99(5):1694-1700.
12. Dempster DW, Zhou H, Recker RR, et al. Skeletal histomorphometry in subjects on teriparatide or zoledronic acid therapy (SHOTZ) study: a randomized controlled trial. *J Clin Endocrinol Metab*. 2012;97(8):2799-2808.
13. Lindsay R, Cosman F, Zhou H, et al. A novel tetracycline labeling schedule for longitudinal evaluation of the short-term effects of anabolic therapy with a single iliac crest bone biopsy: early actions of teriparatide. *J Bone Miner Res*. 2006;21(3):266-373.
14. Cosman F, Nieves JW, Zion M, et al. Daily or cyclical teriparatide treatment in women with osteoporosis on no prior therapy and women on alendronate. *J Clin Endocrinol Metab*. 2015;100(7):2769-2776.
15. Schafer AL, Sellmeyer DE, Palermo L, et al. Six months of parathyroid hormone (1-84) administered concurrently versus sequentially with monthly ibandronate over two years: the PTH and ibandronate combination study (PICS) randomized trial. *J Clin Endocrinol Metab*. 2012;97(10):3522-3529.
16. Compston J. The use of combination therapy in the treatment of postmenopausal osteoporosis. *Endocrine*. 2012;41:11-18.
17. Black DM, Greenspan SL, Ensrud KE, et al. The effects of parathyroid hormone and alendronate alone or in combination in postmenopausal osteoporosis. *N Engl J Med*. 2003;349:1207-1215.
18. Finkelstein JS, Hayes A, Hunzelman JL, Wyland JJ, Lee H, Neer RM. The effects of parathyroid hormone, alendronate, or both in men with osteoporosis. *N Engl J Med*. 2003;349:1216-1226.

19. Finkelstein JS, Wyland JJ, Lee H, Neer RM. Effects of teriparatide, alendronate, or both in women with postmenopausal osteoporosis. *J Clin Endocrinol Metab*. 2010;95:1838-1845.
20. Cosman F, Eriksen EF, Recknor C, et al. Effects of intravenous zoledronic acid plus subcutaneous teriparatide [rhPTH(1-34)] in postmenopausal osteoporosis. *J Bone Miner Res*. 2011;26:503-511.
21. Deal C, Omizo M, Schwartz EN, et al. Combination teriparatide and raloxifene therapy for postmenopausal osteoporosis: results from a 6-month double-blind placebo-controlled trial. *J Bone Miner Res*. 2005;20:1905-1911.
22. Tsai JN, Uihlein AV, Lee H, et al. Teriparatide and denosumab, alone or combined, in women with postmenopausal osteoporosis: the DATA study randomized trial. *Lancet*. 2013;382:50-56.
23. Chen P, Miller PD, Delmas PD, Misurski DA, Krege JH. Change in lumbar spine BMD and vertebral fracture risk reduction in teriparatide-treated postmenopausal women with osteoporosis. *J Bone Miner Res*. 2006;21:1785-1790.
24. Austin M, Yang YC, Vittinghoff E, et al. Relationship between bone mineral density changes with denosumab treatment and risk reduction for vertebral and non vertebral fractures. *J Bone Miner Res*. 2012;27:687-693.
25. Miller Pd, Bolognese MA, Lewiecki EM, et al. Effect of denosumab on the density and turnover in postmenopausal women with low bone mass after long-term continued, discontinued, and restarting of therapy: randomized blinded phase 2 clinical trial. *Bone* 2008;43:222-29.
26. Black DM, Bilezikian JP, Ensrud KE, et al. One year of alendronate after one year of parathyroid hormone (1-84) for osteoporosis. *N Engl Med* 2005;353:555-65.
27. Rittmaster RS, Bolognese M, Ettinger MP, et al. Enhancement of bone mass in osteoporotic women with parathyroid hormone followed by alendronate. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:2129-34.
28. Leder BZ, Tsai JN, Uihlein AV, et al. Denosumab and teriparatide transitions in postmenopausal osteoporosis (The DATA-Switch Study): extension of a randomized controlled trial. *Lancet* 2015;386:1147-55.
29. Zebaze R, Seeman E. Cortical bone: a challenging geography. *J Bone Miner Res* 2015;30:24-29.
30. Bala Y, Zebaze R, Ghasem-Zadeh A, et al. Cortical porosity identifies women with osteopenia at increased risk for forearm fracture. *J Bone Miner Res* 2014;29:1356-62.
31. Tsai JN, Uihlein AV, Burnett-Bowie SM, et al. Comparative effects of teriparatide, denosumab, and combination therapy on peripheral compartmental bone density, microarchitecture, and estimated strength: the DATA-HRpQCT study. *J Bone Miner Res* 2015;30:39-45.
32. Bilezikian JP. Combination anabolic and antiresorptive therapy for osteoporosis: opening the anabolic window. *Curr Osteoporos Rep* 2008;6:24-30.
33. Seeman E and Martin TJ. Co-administration of antiresorptive and anabolic agents: a missed opportunity. *J Bone Miner Res* 2015;30:753-764.

ATTUALI INDICAZIONI ALL'UTILIZZO DEL DENOSUMAB

Chiara Banti, Filomena Cetani

Azienda Ospedaliero-Universitaria Pisana, U.O. Endocrinologia 2, Pisa

INTRODUZIONE

Il denosumab è un anticorpo monoclonale umano di tipo IgG2, diretto contro il RANK ligando. Il RANK ligando è una citochina in grado di interagire con il recettore RANK, espresso sulla membrana dei pre-osteoclasti e sugli osteoclasti maturi (Figura 1). Questo anticorpo monoclonale si lega con elevata affinità e specificità al RANKL prevenendo così l'attivazione del suo recettore e questo è in grado di inibire la formazione, la funzione e la sopravvivenza degli osteoclasti, determinando così una riduzione del riassorbimento corticale e trabecolare.

Questo farmaco si classifica quindi tra gli anti-riassorbitivi che da anni sono utilizzati per l'osteoporosi (bisfosfonati), tuttavia si differenzia da questi per diverse caratteristiche: i) l'effetto farmacologico del denosumab viene meno alla scomparsa dal circolo ematico e non permane nell'organismo oltre il tempo tra una somministrazione e la successiva (a differenza dei bisfosfonati che si depositano nell'osso dove rimangono anche per anni); ii) l'effetto del farmaco si esplica su tutti i distretti sia quelli dove è maggiormente rappresentato l'osso corticale (femore, radio) che quelli dove è più presente l'osso trabecolare (colonna vertebrale); iii) il denosumab a differenza degli altri anti-riassorbitivi determina un incremento continuo in termini densitometrici, senza che si verifichi il cosiddetto effetto plateau a distanza di 4-5 anni dall'inizio della terapia, come si può verificare in corso di terapia con bisfosfonati.

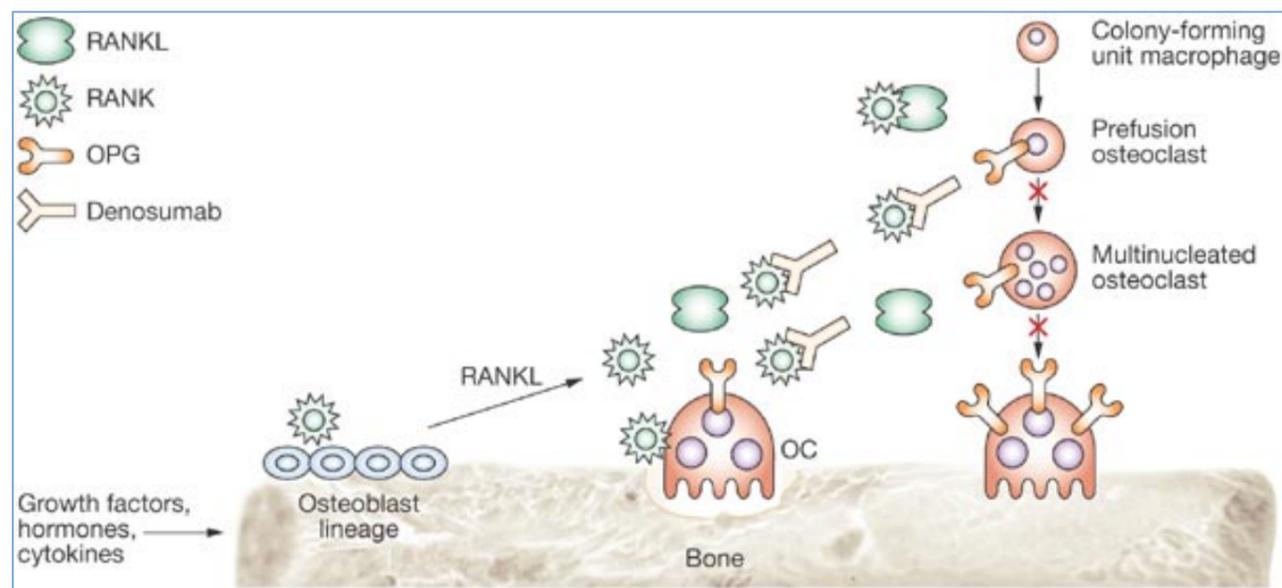


Figura 1. Meccanismo di azione del denosumab. Il denosumab è un anticorpo monoclonale completamente umanizzato che lega con elevata affinità e inibisce l'attività del RANKL, un mediatore chiave dell'attività osteoclastica. RANKL è un mediatore essenziale della formazione, attivazione e sopravvivenza degli osteoclasti. Abbreviazioni: OPG, osteoprotegerina; RANK, recettore attivatore del fattore nucleare KB; RANKL, ligando del recettore attivatore del fattore nucleare KB; TRAIL, TNF-related apoptosis-inducing ligand.

Il denosumab è stato commercializzato al dosaggio di 60 mg (commercializzato con il nome Prolia) che vengono somministrati sottocute ogni 6 mesi, e successivamente commercializzato al dosaggio di 120 mg (commercializzato con il nome Xgeva) nel paziente oncologico con metastasi ossee. Gli effetti farmacodinamici dimostrano che questo anticorpo è in grado di ridurre molto rapidamente il turnover osseo provocando un picco di riduzione del CTX (telopeptide C terminale del collagene tipo I) pari all'85% in soli 3 giorni. Al termine dell'intervallo di somministrazione si assiste ad una risalita dei livelli di CTX dimostrando la reversibilità dell'azione di denosumab.

In questo capitolo vengono riassunti i risultati dei principali studi che hanno portato alla commercializzazione del denosumab nell'osteoporosi post-menopausale, in corso di blocco ormonale adiuvante in uomini con carcinoma mammario prostatico e donne con carcinoma mammario.

TRATTAMENTO DELL'OSTEOPOROSI POST-MENOPAUSALE

Lo studio di fase III multicentrico, randomizzato, in doppio cieco, controllato verso placebo FREEDOM ha arruolato oltre 7868 donne in post-menopausa di età compresa tra 60-90 anni con osteoporosi (T score al rachide lombare o femore totale compreso tra -2.5 e -4). Le donne con osteoporosi severa con fratture erano escluse così come quelle trattate con farmaci antiosteoporotici entro i 5 anni precedenti, bisfosfonati per oltre 3 anni o uso di bisfosfonati entro i 12 mesi prima dell'inizio dello studio. Le donne erano randomizzate a ricevere 60 mg di denosumab (n=3902) o placebo (n=3906) per via sottocutanea (s.c.) ogni sei mesi in associazione a calcio 1000 mg e vitamina D 400-800 UI al dì (a seconda dei livelli di 25OHD di partenza) per un periodo di tre anni. L'82% delle pazienti completava lo studio. Dopo 3 anni, le pazienti che avevano ricevuto il placebo vs quelle che ricevevano il denosumab avevano una più bassa incidenza di:

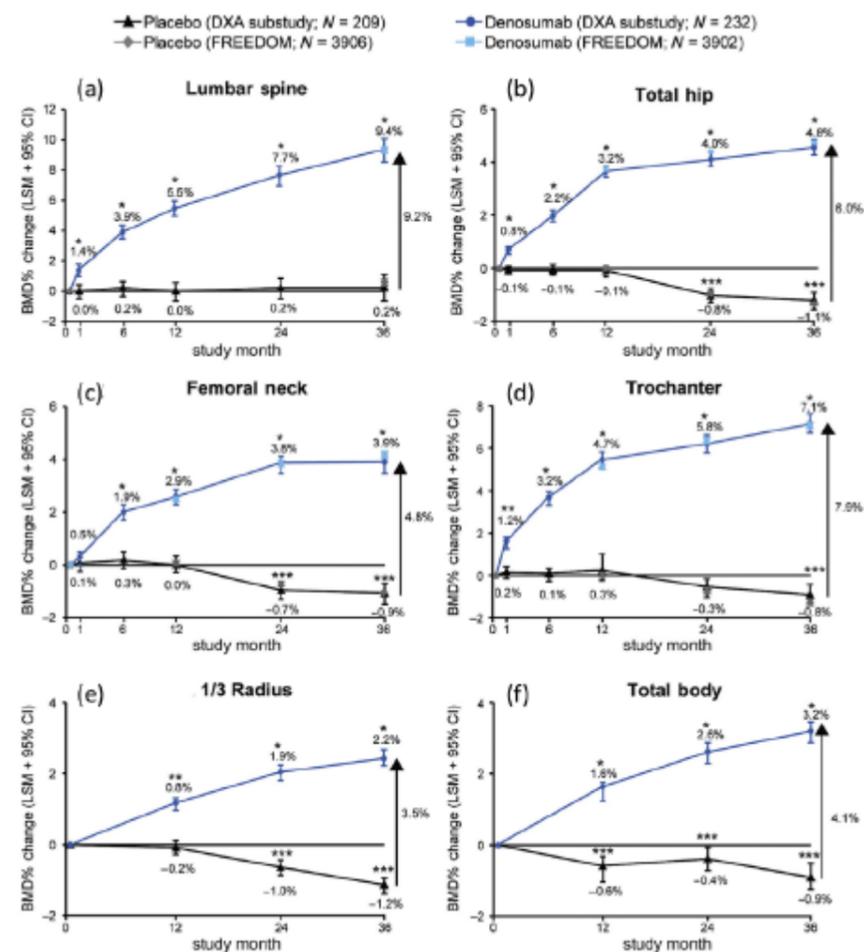
- Nuove fratture vertebrali (2.3% vs 7.2%, rischio relativo 0.32, 95% CI 0.26–0.41, P <.001)
- Fratture non vertebrali (6.5% vs 8%, 0.80, 95% CI 0.67–0.95, P =.01)
- Fratture di femore (0.7% vs 1.2%, rischio relativo 0.60, 95% CI 0.37–0.97, P =.04).

Un aumento della densità minerale ossea a livello della colonna vertebrale e femore, una riduzione dei marcatori di turn-over osseo era anche significativamente maggiore nel gruppo trattato con Denosumab (Figura 2). Il numero necessario da trattare per prevenire una nuova frattura in 3 anni era di 21 per le fratture vertebrali, 67 per le fratture non vertebrali e 200 per le fratture di femore riflettendo la relativa bassa rate in questo studio.

Dopo questa prima fase, le donne hanno avuto la possibilità di essere arruolate nella fase di estensione dello studio FREEDOM della durata di sette anni. I criteri di eleggibilità per la fase di estensione dello studio includevano l'aver terminato la prima fase dello studio e di non avere perso più di una dose del farmaco o placebo nella fase precedente e di non aver ricevuto altri farmaci anti osteoporosi.

Tutte le donne arruolate nella fase di estensione dello studio hanno ricevuto denosumab open-label alla dose di 60 mg ogni sei mesi (n=2343). Le donne che avevano ricevuto il placebo nella prima fase dello studio sono state trattate con denosumab per un periodo complessivo di sette anni (n=220), mentre quelle trattate con il farmaco anche nella fase precedente hanno ricevuto denosumab per un periodo totale di dieci anni in associazione a calcio 1000 mg e vitamina D 400-800 UI al dì. Il trattamento è stato completato da oltre 2600 donne. Questo studio è lo studio di più durata eseguito con farmaci anti riassorbitivi nell'osteoporosi post-menopausale.

Figura 2. Variazione media percentuale della densità minerale ossea (BMD) rispetto al basale a livello della colonna lombare (a), femore totale (b), collo femorale (c), trocantere (d), terzo distale del radio (e) e corporea totale (f) per il gruppo placebo e denosumab dal sottostudio DXA e FREEDOM. *p<0.0001, **p<0.005, ***p<0.05. (da ref. 2).



I soggetti trattati per 10 anni con denosumab hanno mostrato un miglioramento della densità minerale ossea nell'intero periodo di studio pari al 21,7% a livello del rachide lombare del 9,2% a livello dell'anca, rispetto al basale nello studio iniziale. Il tasso annuale di fratture vertebrali e non vertebrali è rimasto ridotto anche nella fase di estensione dello studio.

Recentemente, è stata vista una nuova proprietà del trattamento a lungo termine con un farmaco antirassorbitivo. Dopo 3 anni di denosumab nello studio di estensione si osservava un'ulteriore e significativa riduzione delle fratture non vertebrali nel 4° anno e nel periodo dal 4° al 7° anno rispetto ai primi 3 anni di trattamento. Anche l'incidenza delle fratture di polso era più bassa negli anni 4° e 5° del gruppo trattato a lungo termine. È interessante notare l'effetto positivo del denosumab sull'osso corticale.

I risultati della fase di estensione dello studio di fase III FREEDOM hanno dimostrato che il farmaco è sicuro anche a distanza di dieci anni, riducendo l'incidenza di fratture e mostrando un aumento della densità minerale ossea per tutta la durata dello studio (Tabella 1).

In un sottogruppo dello studio FREEDOM il denosumab ha dimostrato un aumento del volume corticale e del contenuto minerale osseo a 36 mesi.

	Rischio relativo (95% intervallo di confidenza)			
	Fratture di femore	Fratture vertebrali	Fratture di polso	Altre fratture
Denosumab	0.60 (0.37–0.97)	0.32 (0.26–0.41)	Non valutate	0.80 (0.67–0.95)
Alendronato	0.62 (0.40–0.98)	0.56 (0.46–0.68)	0.67 (0.34–1.31)	0.81 (0.68–0.97)
Risedronato	0.74 (0.59–0.93)	0.61 (0.50–0.75)	0.68 (0.43–1.08)	0.81 (0.68–0.97)
Ranelato di stronzio	0.85 (0.61–1.19)	0.60 (0.53–0.69)	Non valutate	0.84 (0.73–0.97)
Raloxifene	1.13 (0.66–1.96)	0.65 (0.53–0.79)	0.89 (0.68–1.15)	0.92 (0.79–1.07)

(modificata da Ref. 12)

Tabella 1. Efficacia antifratturativa del denosumab e di altri farmaci per l'osteoporosi vs placebo

TRATTAMENTO DELL'OSTEOPOROSI MASCHILE

Il denosumab è stato valutato in uno studio di fase III controllato verso placebo in uomini con bassa BMD.

Venivano arruolati 242 uomini (età media 65 anni) e 228 completavano lo studio a 1 anno.

Dopo 12 mesi di terapia, il denosumab determinava un aumento della BMD del 5.7% a livello della colonna lombare, 2.4% a livello del femore totale, 2.1% al collo femorale, 3.1% al trocantere, e 0.6% al terzo distale del radio. Il trattamento con denosumab riduceva in maniera statisticamente significativa i livelli sierici di CTX dopo 15 giorni dall'inizio della terapia.

Lo studio ADAMO condotto su 219 soggetti maschi per un periodo di 24 mesi ha confermato come il denosumab determini un aumento statisticamente significativo della BMD a carico di tutti i segmenti scheletrici studiati (rachide lombare, collo del femore, femore totale, radio distale) ed in particolare un incremento della BMD del 2.2% a livello della colonna vertebrale, dello 0.9% al femore totale, dell'1.3% al collo del femore, e dello 0.2% a livello del radio distale.

TRATTAMENTO DELLA PERDITA DI MASSA OSSEA IN CORSO DI BLOCCO ORMONALE ADIUVANTE CON INIBITORI DELL'AROMATASI IN DONNE CON CARCINOMA MAMMARIO

Le donne affette da carcinoma della mammella presentano uno spiccato ipoestrogenismo indotto dalla soppressione ovarica in premenopausa e dalla terapia adiuvante ormonale in postmenopausa secondario dalla terapia ormonale. Questa condizione determina, una spiccata perdita di massa ossea ed aumenta rapidamente il rischio fratturativo; in effetti il rischio fratturativo aumenta in maniera esponenziale dopo circa 1 anno dall'inizio della terapia ormonale adiuvante e permane elevato anche alla sua sospensione.

Le categorie a maggior rischio di osteoporosi e di frattura da fragilità, sono sicuramente le donne in premenopausa con menopausa indotta da chemioterapia o GnRH, in queste donne il delta estrogenico tra il pre e post menopausale sembra correlare con il rischio fratturativo.

Oggi si ritiene di intraprendere la terapia antifratturativa contestualmente alla terapia ormonale adiuvante, in considerazione della velocità di perdita di massa ossea, della rapidità di insorgenza del picco di rischio fratturativo, il non definito carattere predittivo della BMD sul rischio di frattura in questa condizione.

L'efficacia del denosumab è stata dimostrata in studio di fase III randomizzato, in doppio cieco, controllato verso placebo. Sono state arruolate 3420 donne in post-menopausa affette da carcinoma mammario non metastatico ormono-sensibile in terapia con inibitori dell'aromatasi. Le pazienti erano randomizzate a ricevere 60 mg di denosumab per via s.c. ogni 6 mesi o placebo. A tutte le pazienti è stato raccomandato di assumere quotidianamente un supplemento di almeno 500 mg di calcio e 400 U di vitamina D. L'obiettivo primario dello studio era il tempo alla prima frattura clinica. Gli obiettivi secondari erano: i) la variazione percentuale della BMD rispetto al basale a 36 mesi a livello della colonna lombare, a livello del femore totale e del collo femorale. Incidenza di nuove fratture vertebrali o peggioramento di preesistenti a 36 mesi.

Le pazienti in terapia con denosumab aveva un ritardo alla prima frattura (hazard ratio [HR] 0.50 [95% CI 0.39-0.65], $p < 0.0001$) rispetto al gruppo placebo. Il numero totale di fratture era più basso nel gruppo trattato con denosumab ($n=92$) rispetto al gruppo placebo ($n=176$) e simile in tutti i sottogruppi incluso i pazienti con BMD T-score ≥ -1 ($n=1872$, HR 0.44 [95% CI 0.31-0.64], $p < 0.0001$) e in quelli ≤ -1 ($n=1548$, HR 0.57 [95% CI 0.40-0.82], $p=0.002$).

Nelle pazienti si osservava un incremento della BMD fino a 2 anni verso il placebo:

- a livello della colonna lombare del 8.2%
- a livello del femore totale del 4.7%
- a livello del terzo distale del radio del 6.1%

TRATTAMENTO DELLA PERDITA DI MASSA OSSEA IN CORSO DI BLOCCO ORMONALE ADIUVANTE IN UOMINI CON CARCINOMA PROSTATICO

I pazienti affetti da carcinoma prostatico che effettuano una terapia da deprivazione androgenica presentano una riduzione della BMD ed un aumento del rischio fratturativo.

L'efficacia del denosumab è stata valutata in uno studio di fase III multicentrico, randomizzato, in doppio cieco, controllato verso placebo. Venivano arruolati 1468 uomini con cancro alla prostata non metastatico ormono-sensibile trattati con terapia di deprivazione androgenica (orchietomia bilaterale o terapia con agonisti del GnRH) per una durata attesa del trattamento ≥ 12 mesi. I pazienti erano ≥ 70 anni o < 70 anni ma con bassa BMD (T-score < -1 a livello della colonna lombare, del femore totale o collo femorale) al basale o una pregressa frattura osteoporotica. I pazienti ricevevano 60 mg di denosumab s.c ogni 6 mesi o placebo. Tutti i pazienti ricevevano un supplemento di almeno 1 g di calcio e 400 unità di vitamina D. Il protocollo dello studio è stato emendato per estendere da 2 a 3 anni il periodo di valutazione della sicurezza e dell'effetto sulle fratture. L'obiettivo primario dello studio era la valutazione della variazione percentuale delle BMD rispetto al basale a livello della colonna lombare. Gli obiettivi secondari erano i) la variazione percentuale della BMD rispetto al basale a livello della colonna lombare a 36 mesi e al livello del femore totale e collo femorale a 24 e 36 mesi; ii) incidenza di nuove fratture vertebrali cliniche o morfologiche a 36 mesi; iii) fratture in tutti i siti, tempo alla prima frattura clinica, eventi avversi.

Si osservava un incremento della BMD fino a 3 anni verso il placebo:

- a livello della colonna lombare del 6.7% e 7.9% a 24 e 36 mesi, rispettivamente
- a livello del femore totale del 4.8% e 5.7% 24 e 36 mesi, rispettivamente
- a livello del terzo distale del radio del 5.5% e 6.9% 24 e 36 mesi, rispettivamente

I pazienti che ricevevano il denosumab avevano una ridotta incidenza di nuove fratture vertebrali a 36 mesi statisticamente significativa (1,5% vs 3,9% con placebo) (rischio relativo, 0.38%, CI 0.19-0.78) (Figura 3).

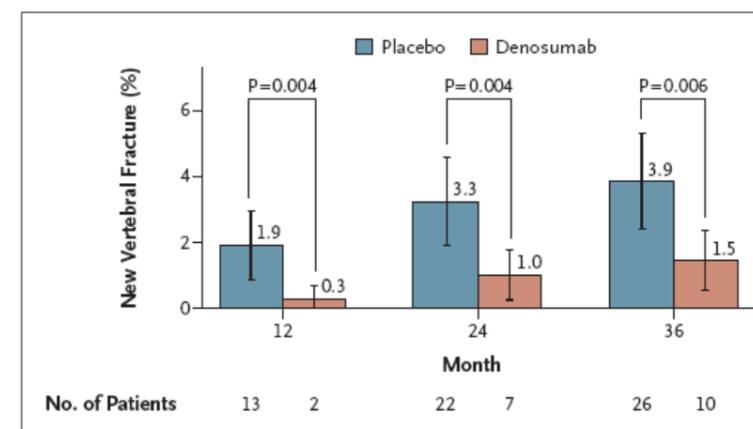


Figura 3. Incidenza cumulativa di nuove fratture vertebrali a 12, 24 e 36 mesi in pazienti con cancro della prostata. Il rischio relativo per le fratture vertebrali tra i 679 pazienti nel gruppo denosumab vs 673 del gruppo placebo era 0.15 a 12 mesi, 0.31 a 24 mesi e 0.38 a 36 mesi.

EVENTI AVVERSI

Durante i 36 mesi dello studio FREEDOM non vi era alcuna differenza nel numero totale di eventi avversi, seri e/o fatali che portavano all'interruzione del farmaco. Nel 3% e 1.7% dei casi era presente eczema nel gruppo trattato vs placebo, rispettivamente. Nel 0.3% e $< 0.1\%$ dei casi si verificava cellulite, incluso erisipela, nel gruppo trattato vs placebo, rispettivamente, e non si modificava nel trattamento a lungo termine. L'osteonecrosi della mandibola (ONJ) e la frattura atipica (AFF) del femore non si osservava nei primi 3 anni ma al 6° anno si osservavano 6 casi di ONJ e 1 di AFF. Successivamente, nella fase post-marketing sono stati registrati 32 casi di ONJ, 4 casi di AFF, 8 casi di severa ipocalcemia e 5 casi di anafilassi.

INDICAZIONI TERAPEUTICHE E PRESCRITTIBILITÀ DEL DENOSUMAB:

Indicazioni terapeutiche Prolia

- Trattamento dell'osteoporosi in donne in post-menopausa e in uomini ad aumentato rischio di fratture. Nelle donne in post-menopausa, Prolia riduce significativamente il rischio di fratture vertebrali, non vertebrali e di femore.
- Trattamento della perdita ossea associata a terapia ormonale ablativa in uomini con cancro alla prostata ad aumentato rischio di fratture. Negli uomini con cancro alla prostata in trattamento con terapia ormonale ablativa, Prolia riduce significativamente il rischio di fratture vertebrali.
- Trattamento della perdita ossea associata alla terapia ormonale ablativa nelle donne con cancro della mammella. Prolia riduce significativamente l'incidenza di nuove fratture.

Indicazioni terapeutiche Xgeva

- Prevenzione di eventi correlati all'apparato scheletrico (fratture patologiche, radioterapia all'osso, compressione del midollo spinale o interventi chirurgici all'osso) negli adulti con metastasi ossee da tumori solidi.
- Trattamento di adulti e adolescenti con apparato scheletrico maturo con tumore a cellule giganti dell'osso non resecabile o per i quali la resezione chirurgica potrebbe provocare severa morbidità

La prescrizione del farmaco denosumab (Prolia) è stata rinegoziata con Aifa e adesso la sua prescrizione è in classe A con le regole stabilite dalla Nota 79. Il farmaco è vendibile al pubblico su prescrizione di centri ospedalieri Universitari o delle Aziende sanitarie o di specialisti.

La prescrizione del medicinale è soggetta a diagnosi e piano terapeutico. Ai fini delle prescrizioni a carico del SSN, i centri utilizzatori specificatamente individuati dalle Regioni, devono compilare la scheda raccolta dati informatizzata di arruolamento che indica i pazienti eleggibili, il piano terapeutico e la scheda di follow-up secondo le indicazioni pubblicate sul sito dell'Aifa.

Per il denosumab la nota si applica su diagnosi e piano terapeutico, rinnovabile, della durata di 12 mesi.

BIBLIOGRAFIA

1. Cummings SR, San Martin J, McClung MR, Siris ES, Eastell R, Reid IR, Delmas P, Zoog HB, Austin M, Wang A, Kutilek S, Adami S, Zanchetta J, Libanati C, Siddhanti S, Christiansen C; FREEDOM Trial. Denosumab for prevention of fractures in postmenopausal women with osteoporosis. *N Engl J Med*. 2009 Aug 20;361(8):756-65.
2. McClung MR, Zanchetta JR, Høiseth A, Kendler DL, Yuen CK, Brown JP, Stonkus S, Goemaere S, Recknor C, Woodson GC, Bolognese MA, Franek E, Brandi ML, Wang A, Libanati C. Denosumab densitometric changes assessed by quantitative computed tomography at the spine and hip in postmenopausal women with osteoporosis. *J Clin Densitom*. 2013 Apr-Jun;16(2):250-6
3. Bolognese MA, Tegljbjærg CS, Zanchetta JR, Lippuner K, McClung MR, Brandi ML, Høiseth A, Lakatos P, Moffett AH, Lorenc RS, Wang A, Libanati C. Denosumab significantly increases DXA BMD at both trabecular and cortical sites: results from the FREEDOM study. *J Clin Densitom*. 2013 Apr-Jun;16(2):147-53.
4. Genant HK1, Engelke K, Hanley DA, Brown JP, Omizo M, Bone HG, Kivitz AJ, Fuerst T, Wang H, Austin M, Libanati C. Denosumab improves density and strength parameters as measured by QCT of the radius in postmenopausal women with low bone mineral density. *Bone*. 2010 Jul;47(1):131-9
5. Bone HG, Chapurlat R, Brandi ML, Brown JP, Czerwinski E, Krieg MA, Mellström D, Radominski SC, Reginster JY, Resch H, Ivorra JA, Roux C, Vittinghoff E, Daizadeh NS, Wang A, Bradley MN, Franchimont N, Geller ML, Wagman RB, Cummings SR, Papapoulos. The effect of three or six years of denosumab exposure in women with postmenopausal osteoporosis: results from the FREEDOM extension. *J Clin Endocrinol Metab* Nov 2013; 98:4483-4492.
6. Orwoll E, Tegljbjærg CS, Langdahl BL, et al. A randomized, placebo controlled study of the effects of denosumab for the treatment of men with low bone mineral density. *J Clin Endocrinol Metab* 2012; Sept 97:3161-3169.
7. Langdahl BL1, Tegljbjærg CS, Ho PR, Chapurlat R, Czerwinski E, Kendler DL, Reginster JY, Kivitz A, Lewiecki EM, Miller PD, Bolognese MA, McClung MR, Bone HG, Ljunggren Ö, Abrahamsen B, Gruntmanis U, Yang YC, Wagman RB, Mirza F, Siddhanti S, Orwoll E. A 24-month study evaluating the efficacy and safety of denosumab for the treatment of men with low bone mineral density: results from the ADAMO trial. *J Clin Endocrinol Metab*. 2015 Apr;100(4):1335-42.
8. Gnant M, Pfeiler G, Dubsy PC, Hubalek M, Greil R, Jakesz R, Wette V, Balic M, Haslbauer F, Melbinger E, Bjelic-Radisic V, Artner-Matuschek S, Fitzal F, Marth C, Sevelde P, Mlineritsch B, Steger GG, Manfreda D, Exner R, Egle D, Bergh J, Kainberger F, Talbot S, Warner D, Fesl C, Singer CF; Austrian Breast and Colorectal Cancer Study Group. Adjuvant denosumab in breast cancer (ABCSG-18): a multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet*. 2015 Aug 1;386(9992):433-43.
9. Ellis GK, Bone HG, Chlebowski R, Paul D, Spadafora S, Smith J, Fan M, Jun S. Randomized trial of denosumab in patients receiving adjuvant aromatase inhibitors for nonmetastatic breast cancer. *J Clin Oncol*. 2008 Oct 20;26(30):4875-82.
10. Farooki A, Fornier M. Denosumab and fracture risk in women with breast cancer. *Lancet*. 2015 Nov 21;386(10008):2056-7.
11. Rossini M, Adami G, Adami S, Viapiana O, Gatti D. Safety issues and adverse reactions with osteoporosis management. *Expert Opin Drug Saf*. 2016 Jan 14:1-12. [Epub ahead of print].
12. Suresh E1, Abrahamsen B. Denosumab: a novel antiresorptive drug for osteoporosis. *Cleve Clin J Med*. 2015 Feb;82(2):105-14.

VITAMINA K E SALUTE DELLO SCHELETRO

Roberta Cosso, Alberto Falchetti

EndOsMet, Villa Donatello, Firenze; Centro Hercolani (Centro S.I.O.M.M.S.), Bologna

INTRODUZIONE

VITAMINA K E OSSO: UNA STORIA RELATIVAMENTE RECENTE

Con il termine vitamina K (VK) è identificato un gruppo di vitamine liposolubili, strutturalmente simili, riconosciuto meno di 100 anni fa, quando il biochimico danese Henrik Dam scoprì nel 1935 che pulcini allevati con dieta priva di steroli e con basso contenuto di grassi sviluppavano importante sanguinamento sottocutaneo e intramuscolare [1]. Così, fu scoperta una vitamina antiemorragica chiamata vitamina K (“Koagulation”) [2]. Questo capitolo ha lo scopo di trattare, brevemente, i possibili, ipotetici, ruoli fisiopatologici che le molecole di VK possono avere nella salute e nel metabolismo osseo, con la finalità di cercare di tracciare una distinzione tra ciò che è stato già valutato da quello che è ancora da essere meglio definito, o conosciuto, in questo campo complesso, prima di tradurre in uso clinico la prescrizione di VK per la salute delle ossa, senza la consapevolezza di quanto questo corrisponda davvero a realtà.

UN LEGAME TRA VK E METABOLISMO OSSEO.

Nel 1974, è stato identificato il ruolo della VK nel processo di carbossilazione della protrombina, aprendo la possibilità che la VK potesse avere un ruolo fisiopatologico anche in vie metaboliche diverse dalla coagulazione del sangue, in particolare nel metabolismo osseo. Infatti, è stato dimostrato l'acido-carbossi-amino glutammico (GLA) nella protrombina come prodotto dell'azione della VK [3], suggerendo, inequivocabilmente, che la VK agisce come cofattore per la carbossilazione post-traduzionale dei residui Gla [4]. Attualmente, diverse proteine ossee sono state dimostrate “ospitare” residui di Gla che rappresentano siti leganti lo ione Ca^{2+} . Tra questi, citiamo almeno sei proteine ossee VK-dipendenti, descritte nella [Tabella 1](#).

FISIOPATOLOGIA DELLA VK

Diverse forme di VK sono state descritte in natura e rappresentano le uniche vitamine liposolubili con specifica funzione di coenzima (carbossilazione post-traslazionale): VK1, VK2 e VK3 ([Figura 1](#)). Sono composti, strutturalmente correlati, che essenzialmente si differenziano per il numero di ripetizioni di unità isopreniche.

VK1 o Fillochinone o Fitonadione

È presente nei cloroplasti delle piante/verdure, in alta quantità in verdure a foglia verde e sono direttamente coinvolti nella fotosintesi. Gli animali possono anche convertirla in VK2.

VK2 o menachinoni

Sono prodotti a livello intestinale per sintesi batterica e riportati come MK-*n*, dove *n* indica il numero di ripetizioni di 5 unità di carbonio (sintetizzati dai batteri) ([Figura 1](#)). I principali MK-*n* alimentari sono: MK-4 (menatetrenone) e MK-10, per lo più in alimenti contenenti grassi (es. il formaggio

PROTEINA	FUNZIONE	RUOLO DEI RESIDUI GLA	PRODOTTA DA
MGP	“Gatekeeper” vascolare dell'ossificazione. Inibisce precipitazione del calcio nei cristalli d'idrossiapatite. Si accumula nelle ossa in forma carbossilata con la fetuina [11, 35], l'osso stesso può essere una fonte importante di complessi di calcio-fosfato-Fetuina-MGP con un conseguente effetto sulla calcificazione vascolare.	Fondamentale per il funzionamento di MGP, e MGP sottocarbossilata, inattiva, si forma in uno stato di VK inadeguata o di antagonismo della VK.	Osteoclasti ed Osteoblasti.
GRP		Ruolo fisiologico di modulatore di calcio nel dominio extracellulare [32, 35].	Condrociti di storione e di ratto ed è anche espressa in cellule ossee di ratto (osteoblasti e osteociti).
Periostina	Altamente espressa nella matrice extracellulare dell'osso e interagisce attraverso i suoi domini di fascicli con le integrine sulla superficie cellulare e le proteine della matrice extracellulare. [33, 35, 80].		Cellule stromali mesenchimali.
PLF	Variante di splicing del locus periostina.		Espressa principalmente nel periostio durante la fase iniziale del rimodellamento adattativo [34].
Proteina-S	Il ruolo della proteina-S nel midollo osseo rimane parzialmente definito [31].		

Tabella 1. Proteine “ossee” descritte come vitamina K-dipendenti.

giapponese fermentato, chiamato natto) in grado di migliorarne l'assorbimento e la biodisponibilità rispetto alla VK1. È stato suggerito che MK-4 sia prodotta mediante la conversione endogena di VK1, MK-7, 8, e 9 di origine alimentare [5]. La maggior parte della produzione di MK-*n* avviene nel colon (vedi sotto) dove i sali biliari sono carenti.

VK3 o menadione

Rappresenta una molecola di pro-vitamina ed è un analogo sintetico, a volte usato come un integratore alimentare a causa della sua attività VK, ma non nei paesi economicamente sviluppati

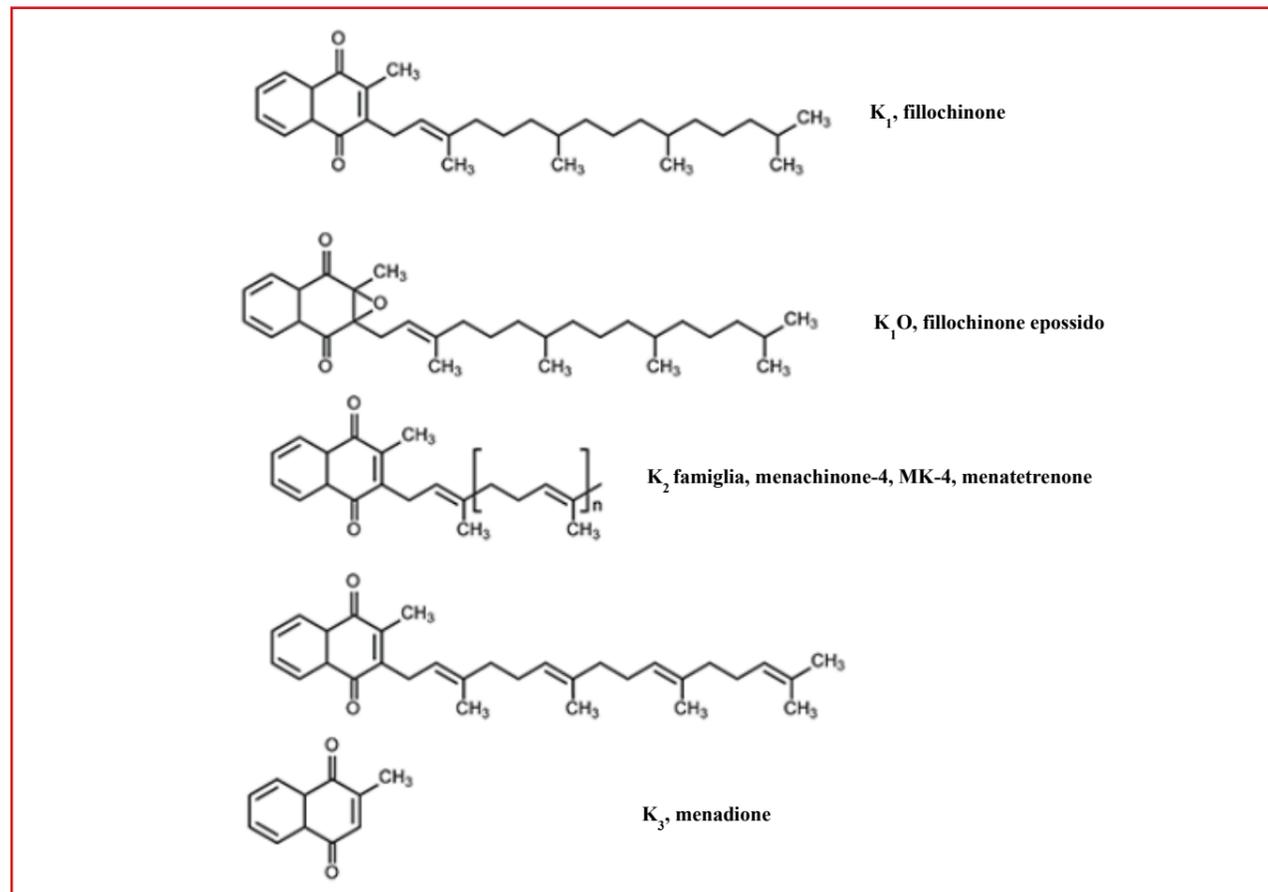


Figura 1. Forme differenti di VK.

per la sua potenziale tossicità. Tutti le varie forme di VK, sopra citate, differiscono per l'emivita plasmatica ($T^{1/2}$) e la biodisponibilità, con VK2/MK-7 avente una biodisponibilità superiore rispetto al fillochinone (VK1) e VK2/MK-4 [6].

METABOLISMO VK: DALLA SORGENTE ALLA DESTINAZIONE

Diversamente da altre vitamine liposolubili, la VK alimentare è rapidamente persa dal corpo, con depositi tissutali relativamente bassi. Lo stato carenziale è reso difficile dall'ubiquità della VK nella dieta, dalla sintesi da parte della microflora intestinale in alcune specie (vedi sotto), e dai requisiti relativamente bassi della VK come cofattore per la γ -glutamyl carbossilazione. La VK alimentare è assorbita nell'intestino tenue, attraverso l'azione dei sali biliari. Non sono state identificate specifiche proteine di trasporto per VK e dopo l'assorbimento intestinale, VK1 e VK2, con l'eccezione del menadione, VK3, sono trasportate nel plasma da lipoproteine ricche in trigliceridi (chilomicroni), dalla circolazione linfatica al fegato e in altri tessuti, come sangue e ossa. A proposito del tessuto osseo, pochi studi sono focalizzati sui meccanismi di assorbimento cellulare di VK, con solo indagini dirette su cellule ossee in coltura [7-9]. Newman et al. [5] hanno mostrato la dipendenza, per quanto concerne l'assorbimento osteoblastico umano di VK1, da proteoglicani eparan-solfati sulla superficie cellulare e da apoE nelle particelle di lipoproteine.

Assorbimento

L'assorbimento VK1 dal cibo, soprattutto verdure a foglia verde, è veramente basso. Solo il 10%

è assorbito nel nostro corpo, mentre l'assorbimento di VK2 dal cibo, soprattutto formaggi, è quasi completo, ed è superiore a quello della VK1.

Escrezione

L'escrezione avviene principalmente con la bile e meno con l'urina [8].

VK1 NATURALE, VK2 NEGLI ALIMENTI E LORO ASSUNZIONE GIORNALIERA CONSIGLIATA

La Tabella 2 riassume le principali fonti alimentari per VK1 e VK2 e la loro quantità relativa per 100 grammi di cibo. Una maggiore quantità di VK2 (1100 mcg/100 g) è presente nel piatto tradizionale giapponese chiamato natto, da cui molti studi giapponesi sulla VK. La dieta europea si compone

Carne	0,5-5,0	1-30
Pesce	0,1-1,0	0,2-4,0
Frutta	0,1-3,0	-
Vegetali verdi	100-700	-
Cereali	0,5-3,0	-
Natto	20-40	900-1200
Formaggi	0,5-10	40-90
Altri latticini	0,5-15	0,2-50
Uova	0,5-2,5	10-25
Margarina e olii vegetali	50-200	-

Tabella 2. Tipi di alimenti e contenuto relativo di VK1 e VK2 (microgrammi) per 100 grammi.

INTAKE ADEQUATO DI VK			
PERIODO DI VITA	ETÀ	MASCHIO (mcg/die)	FEMMINA (mcg/die)
Infante	0-6 mesi	2,0	2,0
	7-12 mesi	2,5	2,5
Bambino	1-3 aa.	30	30
	4-8 aa.	55	55
	9-13 aa.	60	60
Adolescente	14-18 aa.	75	75
Adulto	≥19 aa.	120	90
Gravidanza	≤18 aa.	-	75
	≥19 aa.	-	90
Allattamento	≤18 aa.	-	75
	≥19 aa.	-	90

Tabella 3. Adeguato apporto giornaliero di VK, relativo a diverse fasi della vita.

di vari formaggi fermentati e contiene grandi quantità di VK2/MK-7 (62 mcg/100 g). Pochi effetti collaterali sono stati segnalati per l'assunzione alimentare di VK, come ad esempio l'aumento di vampate di calore e il dolore addominale notturno. Non c'è stata evidenza di tossicità associata con l'assunzione di menaquinone (VK2), anche a una dose giornaliera di 45 mg. Tuttavia, è stato riportato che la dose di VK nel cibo necessaria per ridurre la perdita ossea e il rischio di frattura è molto più elevata, da 200 a 500 mg/giorno, o più, per una carbossilazione ottimale dell'osteocalcina (OCN) [9]. In **Tabella 3**, è riportato l'adeguato apporto giornaliero di VK, relativo a diverse fasi della vita [10]. In particolare, formaggio e semi di soia "giapponesi" fermentati sono alimenti ricchi di VK2, presente anche in scarsa quantità in uova, carne e pesce.

FUNZIONI DELLA VK

Le principali funzioni, note, della VK sono riassunte nella **Tabella 4**.

1) Essenziale per la coagulazione;
2) VK converte in forme attive i fattori della coagulazione sintetizzati dal fegato come precursori inattivi;
3) Conversione di protrombina in trombina;
4) Formazione di fibrinogeno in fibrina, che porta a formazione di un coagulo;
5) Stimolazione di formazione ossea e riduzione del riassorbimento osseo.

Tabella 4. Funzioni note della VK.

VALUTAZIONE DEI VALORI BIOCHIMICI DI VK

È opportuno tenere in considerazione il fatto che l'assunzione di VK2 può essere facilmente valutata con specifici questionari di frequenza alimentare (FFQ), o con la misura dei livelli plasmatici, un metodo, tuttavia, affetto da alterazioni dei lipidi nel sangue. La valutazione funzionale dell'attività VK2 sembra la più utile per valutare l'assunzione di VK2 nella pratica clinica; essa può essere testata con la quantificazione delle proteine VK2-dipendenti, sotto-carbossilate. MK-7 è spesso rilevabile nelle persone giapponesi che mangiano, regolarmente, natto. Infatti, MK-7 ha una lunga emivita plasmatica e alla stessa dose giornaliera equimolare produce concentrazioni plasmatiche di circa 5 volte superiori a quelli della VK1 [11].

EFFETTI DELLA CARENZA ED ECCESSO DI VK

Deficienza

La carenza di VK aumenta il rischio di sanguinamento e di emorragia e può risentire dell'azione degli antibiotici che uccidono i batteri intestinali, VK2-produttori.

Negli ultimi 50 anni, un possibile deficit VK2 è stato suggerito, forse a causa di modifiche delle abitudini alimentari, invecchiamento della popolazione (l'assorbimento delle vitamine liposolubili è ridotta negli anziani) e ad altri fattori legati al metabolismo intestinale. Il ruolo della VK1 nel mantenimento dell'omeostasi della coagulazione del sangue è obbligatorio per la sopravvivenza, mentre la mancanza di VK2 ha effetti a lungo termine sulla salute individuale. In particolare, la carenza di VK2 potrebbe essere secondaria ad una sorta di "scelta" preferenziale che favorisce la VK1 quando sono presenti un ridotto apporto con la dieta e/o ridotto assorbimento intestinale [12].

Eccesso

Ipervitaminosi K può manifestarsi con trombosi, anemia emolitica e ittero, specialmente nei bambini. Gli effetti tossici sono dovuti a un aumento emolisi.

INTEGRATORI DI VK

VK1 e VK2/MK-4 e MK-7 sono disponibili anche in forme farmaceutiche. VK1 è la forma più comune disponibile in commercio. VK2 (MK-4 e MK-7) è un integratore approvato in Giappone per la prevenzione e il trattamento dell'osteoporosi [13]. VK3, o menadione, è la forma sintetica della VK, solubile in acqua che può essere convertita in VK2 nel corpo umano.

La Food and Drug Administration (FDA) non consente la vendita di menadione come integratore alimentare per gli esseri umani per i suoi potenziali effetti collaterali dannosi.

SICUREZZA/EFFETTI NEGATIVI DEI SUPPLEMENTI DI VK.

Sulla base del background di fisiopatologia, un'integrazione alimentare a lungo termine con VK2 in soggetti con un deficit provato, può contribuire a ridurre gli eventi cardiovascolari e le fratture da osteoporosi, migliorando anche la dinamica osteoarticolare nei pazienti anziani. Tuttavia, una vera e propria carenza di VK2 è limitata ai pazienti che hanno ricevuto un precedente trapianto di rene e in quelli dializzati [14-16]. È importante rilevare che la maggior parte degli integratori di VK sono ben tollerati e sicuri, anche se, a volte, gli integratori di VK1 possono influenzare il profilo lipidico, la sensibilità all'insulina e lo stato glicemico. Sono stati descritti effetti avversi rari con VK2/MK-4 (menatetrenone), come, ad esempio, lesioni cutanee ed effetti collaterali gastrointestinali minori. È ben noto che la VK riduce l'effetto degli anticoagulanti come il warfarin e, per coloro che lo assumono, è stato suggerito evitare di: 1) consumare VK; 2) consumare alimenti con alto contenuto di VK (vedi **Tabella 2**); e 3) mantenere incostante l'assunzione corrente di VK. Interazioni farmacologiche sono state segnalate per le molecole antilipemiche o gli antidiabetici [17].

CICLO DELLA VK

I requisiti relativamente bassi di VK sono strettamente dipendenti dalla capacità degli animali, compreso l'uomo, di rigenerare la VK dal suo metabolita epossido tramite il ciclo della VK. Il ciclo della VK consiste nella via metabolica che descrive il riciclo cellulare del metabolita VK 2,3-eossido ($K>O$), prodotto come sottoprodotto durante la sintesi di proteine VK-dipendenti (VKD) nel reticolo endoplasmatico livello (ER). Come accennato in precedenza, il ciclo della VK è intimamente legato all'enzima gamma-glutamylcarbossilasi (GGCX) presente in tutte le cellule che sintetizzano proteine Gla contenenti. Due importanti attività enzimatiche coinvolte nel ciclo VK sono riassunte nella **Tabella 5**.

Attività enzimatiche coinvolte nel ciclo della VK.

- 1) Attività VKOR che rende possibile la conversione dal metabolita eossido alla forma native chinonica.
- 2) Attività reduttasica di VK che rende possibile la riduzione dalla forma chinonica della VK alla forma di VK-idrochinonica (KH 2).

Tabella 5.

VK E METABOLISMO OSSEO

Un apporto dietetico basso di VK e un'alta percentuale di osteocalcina sotto-carbossilata (UC-OCN) sono stati riportati quali fattori di rischio indipendenti per le fratture dell'anca [18-21].

Come riportato in precedenza, la VK agisce come cofattore per GGCX che converte i residui proteici di glutammato (Glu) legati a residui di γ -carbossiglutammato (GLA) nelle proteine VK-dipendenti, attivandoli. Ci sono evidenze che la VK (in particolare, VK2) dirige il Ca^{2+} nello scheletro, evitando di farlo depositare in organi, articolazioni e arterie [22].

Sinergia tra vitamina D e VK nella trascrizione/attivazione dell'osteocalcina (OCN)

OCN è una proteina che contiene residui di Gla e aminoacidi importanti nella connessione con il calcio. È anche identificabile come proteina della matrice ossea-Gla (BGP), prodotta dagli osteoblasti (OBL), ed è coinvolta, presumibilmente, nella sintesi del tessuto osseo, attraverso l'allungamento crescente dei cristalli d'idrossiapatite, interagendo, attraverso gli ioni calcio, con questi ultimi con i residui carbossilati di acido glutammico, al livello della porzione amino-terminale della proteina [23]. Vale la pena ricordare che il 99% del calcio nel corpo umano è conservato nel tessuto osseo in forma d'idrossiapatite. L'espressione di OCN, nelle cellule in coltura, diventa evidente solo quando è avviato il processo di mineralizzazione. La regolazione endocrina dell'omeostasi del glucosio attraverso la secrezione di OCN potrebbe essere molto efficace, perché favorirebbe la proliferazione β -cellulare e la secrezione d'insulina. L'OCN attiva potrebbe esistere in forma decarbossilata/sottocarbossilata, o con l'assenza/riduzione dei residui di acido carbossi-glutammino, ed è in grado di promuovere la secrezione d'insulina. Come sopra riportato, il processo di γ -decarbossilazione di OCN è un meccanismo VK-dipendente. La forma ridotta di VK è un co-fattore essenziale, che è poi ossidato a VK epossido per essere, quindi, nuovamente convertito in forma ridotta VK (VKORC1), consentendo una nuova reazione di γ -decarbossilazione [24]. La trascrizione di OCN è stimolata dalla vitamina D e la sua attivazione dipende dall'effetto della VK.

MATURAZIONE E FASI D'ATTIVAZIONE DELL'OCN

OCN subisce modificazioni post-traduzionali a 3 residui di acido glutammico (E13, E17 e E21) da parte dell'enzima GGCX negli OBL, nel reticolo endoplasmatico, e la γ -carbossilazione ne aumenta l'affinità per la componente minerale dell'osso [24]. Sebbene un ruolo diretto dell'OCN nel processo di mineralizzazione della matrice extracellulare non sia stato dimostrato *in vivo* [25], sembra essere coinvolta nella competenza minerale ossea [26] e nel metabolismo del glucosio [27]. OCN è stata recentemente riportata influenzare la funzione delle β cellule, la sensibilità all'insulina, la produzione di adiponectina, il dispendio energetico e l'obesità [27, 28], assumendo così le caratteristiche tipiche di un ormone. Si può ragionevolmente suggerire che la riparazione ossea o il rimodellamento possono richiedere la supplementazione di VK. L'associazione tra i livelli di VK e lo stato di carbossilazione dell'OCN ha portato al suggerimento che il principale meccanismo alla base dell'influenza protettiva della VK sulle ossa possa comportare la carbossilazione di OCN [53], ma alcuni dati clinici contrastano con ciò e suggeriscono che il trattamento con VK, a dosi in grado di correggere l'OCN sotto-carbossilata, in donne sane in postmenopausa, non ha correlazione con alterato turnover osseo, densità o geometria ossea [29].

ALTRE PROTEINE OSSEE VK-ASSOCIATE.

Oltre l'OCN, come sopra citato, l'identificazione di altre proteine Gla della matrice ossea ha potenziato la ricerca su VK e metabolismo osseo. Infatti, insieme a fattori di coagulazione (II, VII, IX, X, e protrombina), la proteina C, proteina S, proteina Gla della matrice ossea (MGP), proteina Gla-ricca (GRP), periostina, Gas6, il fattore periostina-like (PLF) e altre proteine VKD, supportano un ruolo per la VK nell'omeostasi del calcio, nell'inibizione della calcificazione della parete del vaso, integrità endoteliale, facilitazione della mineralizzazione dell'osso, rinnovamento tissutale e controllo della crescita cellulare, e probabilmente numerosi altri effetti [30-35]. BGP e MGP hanno una bassa affinità con i fattori di coagulazione nel sangue, anche se si ritiene che i due tipi di molecole originino da un antenato comune [59, 60]. MGP, con i suoi cinque residui Gla, conferisce un'elevata affinità per il calcio, fosfato e idrossiapatite, è un potente inibitore della calcificazione, di riconosciuta importanza per la salute vascolare [34, 35] (Tabella 1)

PROTEINE VKD, SALUTE E METABOLISMO DELLE OSSA

Anche se i ruoli e gli esatti meccanismi biomolecolari alla base della regolazione fine dell'omeostasi del calcio osseo sono ancora sconosciuti, è stato suggerito che il sincizio formato da "lining cells"-osteociti la possa modulare attraverso diversi meccanismi. Uno di questi potrebbe essere rappresentato dalla produzione di proteine Gla non collageniche che complessano grandi quantità di calcio e fisicamente si legano a cristalli d'idrossiapatite, regolando così la concentrazione appropriata di calcio libero nel liquido extracellulare [35, 36]. Tuttavia, secondo le caratteristiche specifiche ossee di OCN, MGP, GRP, periostina e PLF, si potrebbe suggerire che i processi carbossilazione/decarbossilazione-VKD, cellulo- e tessuto-specifici, attraverso i passaggi evolutivi adattativi, abbiano contribuito a creare sia percorsi regolatori nell'osso che lo sviluppo del metabolismo osseo, del metabolismo energetico, dei meccanismi di calcificazione, dell'omeostasi del calcio sierico e dell'angiogenesi [35].

FUNZIONI PLEIOTROPICHE DI VK SULL'OSSO

Sono riassunte nella Tabella 6.

Funzioni pleiotropiche di VK sull'osso.

- 1) processi di carbossilazione/decarbossilazione di proteine Gla tessuto - e cellulo-specifiche, con funzioni strutturali e di regolazione del tessuto osseo (e tessuti non mineralizzati);
- 2) nuove vie di segnalazione che coinvolgono il fattore di trascrizione, del recettore degli steroidi-xenobiotici (SXR), classe 1 di recettori intracellulari, cui appartiene anche la famiglia del recettore della vitamina D [36, 81].

Tabella 6.

VK E CELLULE OSSEE

VK e OBL

Diversi bersagli proteici della VK sono proteine osteoblastiche e componenti della matrice ossea. Come scritto sopra, la VK è il principale regolatore della maturazione molecolare dell'OCN e interagisce con MGP (proteina Gla inibitore della calcificazione della matrice) [37]. Inoltre, promuove e stimola la mineralizzazione [38]. VK stimola la differenziazione, la formazione, l'attività e il metabolismo degli OBL [39], stimolando l'espressione e la produzione di marcatori come il collagene di tipo 1, osteopontina e MGP così come anche la formazione di osso lamellare [40]. È stato segnalato che il dicumarolo, un anticoagulante naturale che funge da "depleter" funzionale di VK (simile al farmaco warfarin), non influenza la formazione del callo osseo, ma riduce la quantità totale di osso di nuova sintesi [41] (Tabella 7). La "resistenza" al warfarin può suggerire che punti a un percorso specifico della VK nell'osso, carbossilazione indipendente, legato alla sua azione genomica, ma questo resta ancora da essere dimostrato [36]. Recentemente, è stata descritta l'azione della VK2 sulla formazione e l'attività degli OBL attraverso la "down-regulation" dell'attivazione basale e indotta da citochine del Nuclear Factor kB (NF-kB), aumentando l'mRNA dell'inibitore di NF-kappa-B (IkB), in una maniera γ -carbossilazione-indipendente. Inoltre, è stato dimostrato che VK2 impedisce la repressione da parte del TNF α delle proteine SMAD intracellulari che trasducono segnali extracellulari dei ligandi del TGF β al nucleo dove attivano la segnalazione della trascrizione del gene a valle indotta sia dal TGF β o dalla proteina ossea morfogenetica-2 (BMP-2). Tali risultati suggeriscono, almeno in vitro, un'ipotetica azione pro-anabolizzante sullo scheletro che hanno bisogno di evidenze più forti, prima di poter prescrivere VK2 per questo scopo [39]. Diversamente da quanto descritto per la VK2, sembra che la VK1 possa richiedere un dosaggio molto superiore o possa agire attraverso meccanismi diversi, e non deve essere considerato come equivalente o intercambiabile con la VK2 [39].

In particolare, il warfarin non sembra avere influenza sugli effetti VK-dipendenti su:

- 1) la transizione osteoblasti-osteociti;
- 2) l'espressione del marcatore osteocitico E11;
- 3) lo spostamento del rapporto RANKL/OPG verso un ambiente anti-osteoclastogenico.

Tabella 7.

VK E OSTEOCLASTI E OSTEOCITI

In Tabella 8 è descritto che la VK blocca i pre- osteoclasti e gli osteoclasti maturi. La VK esibisce capacità di promuovere meccanismi carbossilasi-dipendenti e -indipendenti (attraverso la via metabolica legata a SXR?) (Tabella 9). Come riportato rispetto agli OBL, la VK2 agisce anche su

La VK blocca pre-osteoclasti e osteoclasti maturi, attraverso:

- 1) blocco dei precursori circolanti degli osteoclasti [82];
- 2) blocco dell'osteoclastogenesi, disattivando NF-kB, così sopprimendo il riassorbimento osseo [39, 58, 83];
- 3) blocco dell'apoptosi degli osteoclasti maturi in un ciclo di riassorbimento completato [82].

Tabella 8.

La VK ha capacità di promuovere meccanismi carbossilasi-dipendenti e -indipendenti, mediante (tutti determinanti della qualità dell'osso):

- 1) accumulo di collagene;
- 2) interazioni cellula-matrice;
- 3) mineralizzazione della matrice;
- 4) maturazione minerale;
- 5) differenziazione degli osteociti.

Tabella 9.

attività e formazione degli osteoclasti down-regolando l'attivazione basale e indotta da citochine di NF-kB, aumentando l'mRNA di IkB, in maniera γ -carbossilazione indipendente, sopprimendo quindi l'osteoclastogenesi [39], come suggerito anche dall'evidenza che la VK2 migliora la distruzione ossea nell'artrite reumatoide down-regolando la produzione di RANKL.

AMPLIANDO LA GAMMA DELLE FUNZIONI DELLA VK NELL'OSSO

Atkins et al., hanno fornito prove convincenti che omologhi sintetici della VK inducono eventi cellulari con meccanismi sia di carbossilazione-dipendenti e -indipendenti. Omologhi della VK inducono la mineralizzazione della matrice ossea, favorendo il passaggio da OBL in osteociti e inibendo l'espressione di RANKL in una linea cellulare di osteociti-like, ORD-Y4, ostacolando, quindi, potenzialmente l'osteoclastogenesi [36]. L'equilibrio tra RANKL e OPG, potenzialmente raggiunto sotto lo stimolo di VK, potrebbe tradursi in un risultato positivo della massa ossea, riducendo la fase relativa del riassorbimento della sequenza d'attivazione del rimodellamento dell'osso. Questo effetto inibitorio della VK sulla produzione di RANKL merita un'ulteriore discussione, essendo, tuttavia, in accordo con i risultati osservati *in vivo* [42], ma in disaccordo con quelli osservati *in vitro* in un fenotipo più immaturo di OBL [43]. L'effetto positivo dell'esposizione alla VK sulla mineralizzazione della matrice è parzialmente dovuto alla carbossilazione; infatti, il warfarin, un legante noto della VK-epossido reductasi, inibisce il riciclaggio della VK, e interferisce con questi effetti positivi. VK2/MK-4 e MK-7 mostrano capacità simili nella carbossilazione dell'OCN. La supplementazione con VK2/MK-7 sembra essere più efficace rispetto al fillochinone (VK1) nella carbossilazione dell'OCN [44]. La VK influenza la trascrizione dei geni necessari per l'espressione di marcatori osteoblastici e quelli coinvolti nell'assemblaggio del collagene [45]. Gli studi *in vitro* e in animali suggeriscono che VK2/MK-4 possa essere coinvolta nella regolazione dell'infiammazione, dello stress ossidativo e apoptosi (tutti, a loro volta, possono ridurre il riassorbimento osseo) [46].

STUDI CLINICI SU VK E OSSO

Confronto delle integrazioni di VK1 e VK2 sulla salute dell'osso

Recentemente è stato eseguito uno studio su 173 donne, randomizzate in tre gruppi d'intervento e in un gruppo di controllo. Più specificamente, i 3 gruppi d'intervento includevano: a) soggetti integrati con 800 mg/die di calcio e 10 microgrammi/giorno di vitamina D3; b) soggetti integrati con 800 mg/die di calcio, 10 mcg/die di vitamina D3, e 100 mcg/die di fillochinone; c) soggetti

integrati con 800 mg/die di calcio, 10 mcg/die di vitamina D3, e 100 mcg/die di MK-7 con latte fortificato e yogurt. Nessun intervento dietetico è stato consegnato al gruppo di controllo, che ha proseguito con la consueta dieta durante il periodo di 12 mesi.

L'effetto benefico dell'intervento nei due gruppi di studio con la VK riflette in primo luogo la soppressione del processo di rimodellamento osseo e i cambiamenti positivi in LS-BMD. Come suggerito anche dagli autori, la natura olistica dell'intervento e probabilmente l'effetto sinergico di nutrienti integrati essenziali per la salute delle ossa (cioè, proteine del latte, vitamina D, VK, calcio, magnesio e fosforo), insieme con l'aumento dei livelli di attività fisica e le migliorate abitudini alimentari, potrebbero probabilmente fornire una spiegazione per questi cambiamenti favorevoli [47].

LIVELLI VK, BMD E RISCHIO FRATTURA

Uno studio prospettico su 944 donne giapponesi (età compresa 20-79 anni) ha rivelato una correlazione positiva tra i valori basali della BMD, valutata con DXA, al femore totale (TH) e l'assunzione di natto nelle donne in post-menopausa. Durante i 3 anni di follow-up, il tasso di perdita di BMD, a livello al collo del femore (FN), erano significativamente inferiori nei consumatori di natto (oltre 200 mcg/die di MK-7) vs. non consumatori [48]. Il risultato sia di TH- e FN-BMD è significativamente più alto in circa 2.000 uomini giapponesi di età ≥ 65 anni che consumano regolarmente almeno un pacchetto/giorno di natto (corrispondenti a ≥ 350 mcg/die di MK-7) vs. utilizzatori di meno di 1 pacchetto/giorno (< 50 mcg/giorno di MK-7). Tuttavia, si deve anche considerare che, insieme con il natto sono presenti anche altri composti (es. isoflavoni di soia), con potenziali benefici ossei [49].

RISULTATI CONTRASTANTI NEGLI STUDI GIAPPONESI, EUROPEI E NEGLI USA

Secondo la review di Iwamoto et al. che considera diversi studi clinici randomizzati (RCT), dal 2000 al 2009, esistono risultati ambigui sugli effetti di menatetrenone (un VK2 sintetico) sulla densità minerale ossea, come anche sull'incidenza di fratture osteoporotiche, in donne in post-menopausa [50]. Tuttavia, i RCT considerati sono molto disomogenei in diversi parametri, quali il disegno e la dimensione dello studio, i tipi di gruppi di controllo (placebo, non trattati o trattati con alfa-calcidolo o estrogeni o etidronato). Risultati ambigui sono stati riportati anche in studi europei e negli USA. In un RCT di 3 anni su 325 donne sane in post-menopausa, VK2/MK-4, alla dose di 45 mg/giorno per tre anni, migliora la resistenza ossea. Tuttavia, questa dose è circa 500 volte superiore alla dose giornaliera consigliata di VK [51]. In un RCT-USA della durata di 1 anno, in doppio cieco e controllato vs. placebo, su 365 donne sane in post-menopausa con insufficienza di VK, definita da valori di UC-OC $\geq 4\%$, né alte dosi di VK1 (1000 mcg/die), né di VK2/MK-4 (45 mg/die) hanno avuto un effetto sui marcatori del turnover osseo o sulla BMD lombare o del femore. Tutti i soggetti partecipanti hanno ricevuto calcio (630 mg/die) e vitamina D3 (400 UI/die) [31]. In un altro RCT, doppio cieco vs. placebo, su 334 donne norvegesi sane in post-menopausa (da 1 a 5 anni), nessun effetto di 360 mcg/giorno di VK2 / MK-7 (capsule di natto) è stato osservato sulla BMD in vari siti dopo 1 anno [13]. Un altro RCT, rispetto al placebo, su 244 donne olandesi in post-menopausa, 180 mcg/die di VK2/MK7 per tre anni ha rivelato una significativa riduzione della perdita ossea al FN, ma non in altri siti [52]. Allo stato attuale, il potenziale della supplementazione di VK2 sulla salute delle ossa deve ancora essere stabilita in RCT più grandi.

Il "Nurses 'Health Study" (72.327 soggetti inclusi) ha dimostrato che donne, di età compresa 30-88 anni, con un apporto di fillochinone, VK1, < 109 mg/die hanno maggiore rischio di frattura dell'anca a 10 anni vs. una maggiore assunzione di VK1 [53]. Il "Framingham Heart Study" ha incluso maschi e femmine, con un'età media di 75 anni ed assunzione mediana di VK1 di 56 mg/die che esibiscono un più alto rischio di fratture del femore prossimale in 7 anni vs. assunzione media di 254 mg/die. Valori ridotti circolanti di VK1, ridotta assunzione di VK1, basso apporto di VK2 (MK-7) e alti livelli sierici di UC-OC sono stati tutti associati ad un aumentato rischio di fratture in più studi osservazionali [22, 54]. Tuttavia, gli studi osservazionali non hanno evidenziato alcuna associazione tra l'assunzione di VK1 e BMD [55].

Recentemente, è stato riportato, in una popolazione anziana norvegese, che entrambi i livelli di VK1 e 25OHD sono più bassi nei pazienti che soffrono per la frattura dell'anca e che possono essere in modo indipendente, e in sinergia, associati al rischio di frattura dell'anca dopo aggiustamento per fattori confondenti [56]. In particolare, è stata descritta sia una significativa interazione tra 25OHD e VK1 che una significativa correlazione tra OC totale, VK1 e 25OHD. Così, secondo anche questi autori, futuri studi d'intervento dovrebbero includere entrambe le vitamine.

ASSOCIAZIONI TRA VK1, BMD E FRATTURE: STUDI OSSERVAZIONALI

Uno studio trasversale su una coorte di 3.199 donne scozzesi di mezza età ha dimostrato che i soggetti nel quartile più alto di assunzione di VK1 (162 mcg/die) hanno BMS-LS e FN-BMD significativamente più alte rispetto al quartile d'assunzione più basso (59 mcg/die) [57]. Recenti studi trasversali e caso-controllo hanno rivelato associazioni tra alto consumo di VK1 e riduzione dell'incidenza di fratture d'anca [109, 111]. Altri studi hanno confermato un'associazione tra ridotto apporto di VK1 e bassa BMD nelle donne, ma, in generale, ci sono meno evidenze per l'associazione tra assunzione di VK1 e aumento della BMD [22]. Tutti questi studi suggeriscono che un adeguato apporto di VK può essere necessario per ridurre la perdita di massa ossea, o che le quantità di VK per mantenere la salute delle ossa possono essere maggiori dell'assunzione alimentare attuale. Tuttavia, la maggiore limitazione di questi studi è rappresentata dal fatto che un elevato apporto di VK1 è indicatore anche di una dieta sana, ricca di verdure, contenente anche altri nutrienti protettivi per l'osso. Gli studi che hanno misurato la VK1 plasmatica hanno mostrato che i livelli più elevati sono associati a ridotto rischio di fratture [58, 59]. L'incidenza di fratture vertebrali è stata segnalata essere inversamente correlata con i livelli di LS-BMD e i livelli di VK in uno studio di 4 anni su 379 donne giapponesi di 30-88 anni d'età [59]. Pertanto, i risultati ottenuti dai soli studi osservazionali, in assenza di RCT, non concludono che la VK possa esercitare un effetto protettivo indipendente sulla salute delle ossa. Fino a oggi, gli studi osservazionali non danno un'inequivocabile associazione tra i livelli di VK2 (MK-7 e MK-4) e rischio di fratture. Esistono pochi studi di associazione su menachinone (K2) e salute delle ossa, con limitate fonti di cibo di MK-4, la principale forma di VK2 nelle diete occidentali.

SUPPLEMENTAZIONE DI VK, BMD E FRATTURE: SPERIMENTAZIONI CLINICHE E LORO META-ANALISI

Studi clinici in varie popolazioni hanno esaminato gli effetti della VK sulla BMD. In particolare, due revisioni sistematiche e meta-analisi hanno sintetizzato i risultati [60, 61]. Nella più recente di queste [61], sono riportati i dati provenienti da 17 studi clinici con VK in popolazioni sane e in

pazienti, con giovani, 18 anni di età, e soggetti più anziani, con osteoporosi primaria e secondaria. Tra questi, 10 studi con VK2 (8 studi con MK-4, a dosi di 15-45 mg/die, e 2 studi con MK-7, a dosi di 0,2-3,6 mg/die) e 7 studi con VK1 (0,2-10 mg/die). La supplementazione con VK non ha avuto alcun effetto sul FN-BMD, ma la LS-BMD risulta aumentata in media di 1.3%, dopo 6-36 mesi di supplementazione. In un sottogruppo d'analisi, sulla base del tipo di VK supportata, è mostrato che la VK2 aumenta significativamente la LS-BMD di 1.8%, mentre la VK1 non ha avuto alcun effetto. L'effetto del trattamento sulla LS-BMD ha rivelato incrementi più alti in popolazioni asiatiche che in popolazioni occidentali. Tuttavia, dopo l'esclusione di studi ad alto rischio di bias, non sono stati riportati effetti significativi della VK sulla LS-BMD. Le stime riportate sono probabilmente distorte dalle grandi differenze di popolazioni di studio, dalla metodologia, dalla qualità del processo selezionato e dal bias di pubblicazione [62]. Una recente indagine coreana sulla salute e la nutrizione, 2010-2011, ha analizzato i dati grezzi del "Fifth Korea National Health and Nutrition Examination Survey" per adulti (2.785 uomini, 4.307 donne) d'età superiore ai 19 anni. Dopo analisi cross-sezionali, è stata trovata un'unica associazione positiva tra assunzione di VK e FN-BMD negli uomini, dopo aggiustamento per i fattori osso-correlati. In particolare, le donne nel terzile più alto d'assunzione di VK avevano una LS e FN-BMD significativamente più alta rispetto alle donne nei terzili più bassi. Inoltre, maggiore assunzione di VK, minore il rischio per osteoporosi nelle donne, ma tale risultato è stato perso dopo aggiustamento di fattori. Così, in questa indagine un basso apporto dietetico di VK è stato associato ad una bassa BMD, suggerendo la necessità di aumentare l'assunzione alimentare di VK per mantenere la BMD, tuttora da provare [63].

EFFETTI DELLA SUPPLEMENTAZIONE VK1 SULLE FRATTURE

Gli effetti della supplementazione di VK1 sulle fratture sono limitati, e si basano su un singolo studio (evidenze d'integrazione con VK nelle donne in post-menopausa con osteopenia) perché la maggior parte studi con VK1 non sono stati progettati per esaminare come "end-point" la frattura. Uno studio clinico in doppio cieco, controllato vs. placebo, di supplementazione con VK, in 440 donne canadesi osteopeniche in post-menopausa, ha trovato un effetto statisticamente significativo della VK1, 5 mg/die, su tutte le fratture dopo 2-4 anni di supplementazione (9 donne con 11 fratture vs. VK1 20 donne con 21 fratture nel gruppo placebo; hazard ratio 0.48, 95% CI: 0.00:20 -0.98), ma la frattura è stata un prodotto secondario del processo [13].

EFFETTI DELLA SUPPLEMENTAZIONE DI VK2 SULLE FRATTURE

Si basano sui risultati di 8 studi in pazienti giapponesi affetti da osteoporosi primaria o secondaria. Una revisione sistematica e una meta-analisi di sette studi clinici giapponesi hanno valutato che la supplementazione con MK-4, a dosi di 15-45 mg/die in 12-24 mesi, ha significativamente ridotto le fratture di anca, vertebrali e non vertebrali [59]. Tuttavia, l'ottavo studio (il più grande), pubblicato nel 2009, ha una conclusione diversa [64]. Si tratta di un ampio studio aperto di fase IV su 4.378 donne osteoporotiche giapponesi, con/senza fratture vertebrali prevalenti, integrate con MK-4 e calcio a 3 anni e 1 anno di follow-up, in cui non vi era alcuna restrizione sull'uso di farmaci per osteoporosi, ha dimostrato che un trattamento combinato, con MK-4, 45 mg/giorno (3 dosi di 15 mg/die) e calcio vs. calcio da solo, non è stato associato con cambiamenti nell'incidenza di fratture vertebrali a 3 anni (5,9% vs. 5,7%) e cambiamenti nella incidenza di tutte le fratture cliniche (2,5% vs. 2,1%).

In 1/11 analisi post-hoc di sottogruppi, senza correzione, ha trovato una riduzione statisticamente significativa di nuove fratture vertebrali in un sottogruppo di donne con più di 5 fratture vertebrali prevalenti (20.3% vs 33.2%). Uno studio clinico di confronto, in doppio cieco e randomizzato, con 0,36 mg/die di MK-7 vs. placebo per 3 anni in 244 donne olandesi in postmenopausa senza osteoporosi ha trovato 1 nuova frattura vertebrale nelle donne in MK-7 gruppo (n = 120) e 6 nel gruppo placebo (n = 124), ma ci sono stati poche differenze statisticamente significative tra i 2 gruppi di fratture [52]. Fino ad oggi, in letteratura è stato pubblicato che la supplementazione di VK2 può proteggere contro le fratture, ma i dati non sono coerenti.

LIMITI METODOLOGICI DELLE EVIDENZE ATTUALI

Diverse limitazioni sono riportate nella **Tabella 10** e molte differenze esistono tra i diversi studi internazionali riguardanti lo stato di VK, BMD e rischio di fratture, come riassunto nella **Tabella 11**.

Limiti generali delle attuali evidenze su VK e salute dell'osso

- 1) vari problemi metodologici riportati in trial giapponesi con VK2/MK-4;
- 2) bias di selezione dovuto a mancanza di "blinding" e conseguente bias di valutazione;
- 3) elevati tassi di abbandono del trial;
- 4) inomogeneità estrema delle popolazioni partecipanti, quali anziani con osteoporosi primaria o secondaria;
- 5) Inadeguati report in merito alla sufficienza/insufficienza di assunzione di vitamina D e calcio;
- 6) Possibile esistenza di differenti rischi basali per fratture entro le popolazioni;
- 7) Generalizzazione dei risultati con VK2/MK4 in donne in post-menopausa sane, replete con calcio e vitamina D;
- 8) mancanza di studi su supplementazione di VK e fratture come "end-point" primario;
- 9) effetti globali poco chiari in merito alla supplementazione con VK sulla prevenzione delle fratture.

Tabella 10.

Riassunto delle differenze esistenti tra i risultati emergenti dagli studi clinici su VK, BMD e fratture da fragilità.

- 1) differenze nella forma utilizzata di VK;
- 2) intake basale di VK non sempre calcolato;
- 3) differenze nelle stime di sufficienza/insufficienza nell'assunzione di vitamina D e calcio o mancanza di tali dati;
- 4) differenze nelle popolazioni di studio;
- 5) studi giapponesi sono con VK2 sotto forma di MK4, studi europei con VK2/MK7 e studi nord-americani essenzialmente con VK1.

Tabella 11.

STUDI DI TERAPIA CON COMBINAZIONE DI MENATETRENONE (K2) E AMINO-BISFOSFONATI

La terapia concomitante con bisfosfonati e VK potrebbe essere promettente in quanto i bisfosfonati probabilmente interferiscono con l'attivazione della VK. Un RCT per il beneficio della terapia di combinazione con VK2 e alendronato (ALN) in donne in post-menopausa ha descritto aumento di FN-BMD e riduzione dei livelli sierici di UC-OCN più alta nel gruppo VK2 con ALN vs. ALN solo [64]. Di recente, sono stati indagati gli effetti del risedronato, da solo o in combinazione con VK2, sui livelli sierici di OCN-carbossilata e UC-OCN in una popolazione osteoporotica giapponese di donne in postmenopausa. Anche se nessuna differenza significativa è stata osservata tra i trattamenti tra tasso di riduzione di UC-OCN e incidenza di fratture vertebrali, i livelli di UC-OCN nelle pazienti con fratture vertebrali incidenti erano significativamente maggiori nei soggetti trattati con terapia di combinazione rispetto ai pazienti con solo risedronato [65]. Negli studi giapponesi, i valori soglia per un aumento del rischio di fratture associato con le concentrazioni sieriche di UC-OCN sono fissati a 4.5 ng/ml per trattamento naive di donne in post-menopausa e a 2.6 ng/ml per donne in post-menopausa trattate con un bisfosfonato. La VK potrebbe svolgere un ruolo importante nella prevenzione delle fratture nelle donne in post-menopausa con osteoporosi [66, 67].

ANTAGONISTI DELLA VK E SALUTE DELL'OSSO

Gli anticoagulanti orali, come il warfarin, sono noti antagonisti della VK. Purtroppo, ci sono solo pochi studi sull'uso cronico di warfarin e rischio di fratture nelle donne anziane. Un'associazione tra trattamento a lungo termine e il rischio di frattura (uno studio), non è stata dimostrata [68]. Un altro studio ha rivelato un rischio significativamente più alto per le fratture di coste e le fratture vertebrali in consumatori di warfarin rispetto ai non utilizzatori [69]. Nei pazienti anziani con fibrillazione atriale, il trattamento a lungo termine è stato associato ad un significativo aumento del rischio di fratture osteoporotiche negli uomini, ma non nelle donne [70]. Una meta-analisi di 11 studi ha rivelato che la terapia anticoagulante orale era associata ad una modesta riduzione della BMD a livello del polso, ma nessun cambiamento a livello dell'anca o della colonna vertebrale [69]. Uno stato nutrizionale alterato di VK o l'uso warfarin, con alte concentrazioni sieriche di UC-OCN, ha comportato un aumento del rischio di fratture. Recentemente, uno studio su 70 bambini, affetti da malattie croniche ed aumentato rischio di sviluppare trombosi, esposti a trattamento con warfarin a lungo termine ha dimostrato che questi soggetti hanno maggiore probabilità di avere condizioni mediche di base complesse e un basso indice di massa corporea (BMI), così come anche altri inconvenienti, come una produzione ridotta di GH. Questo studio ha rivelato che la BMD potrebbe essere negativamente influenzata da IMC e deficit di GH, il che suggerisce sia una diagnosi che un intervento precoce in questi pazienti [71]. In uno studio giapponese, condotto su 42 pazienti con fibrillazione atriale ad alto rischio per aterosclerosi, con uno o più fattori di rischio coronarico, di cui 24 trattati con warfarin per almeno 12 mesi, e 18 senza warfarin, sono stati misurati la fosfatasi alcalina ossea, UC-OCN e RANKL come marcatori del turnover osseo. Sia i livelli-OCN UC che di RANKL sono risultati significativamente più elevati nei soggetti trattati con warfarin, il che suggerisce che la terapia con warfarin a lungo termine può essere associata con la perdita minerale ossea nei pazienti più anziani [72]. Un recente studio ha rivelato che un "early-trigger" di VK per via endovenosa può ottimizzare la cura "target-driven" nei pazienti warfarinizzati con frattura dell'anca [73].

Il futuro sviluppo di nuovi anticoagulanti che non bloccano il riciclaggio di VK può rappresentare una scelta più sicura per l'uso di antagonisti della VK [74].

CONCLUSIONI

Esiste ancora una limitata evidenza per la VK nella prevenzione delle fratture e questo non consiglia l'uso di routine di supplementi VK per la prevenzione di osteoporosi e fratture in uomini e in donne in post-menopausa. È stato suggerito che la vitamina D e VK possano avere un'azione sinergica, ma non è attualmente noto se ciò si verifichi in maniera indipendente. Diverse informazioni sul rapporto tra vitamina D e salute delle ossa possono essere considerate come pietre miliari nel metabolismo osseo. Fino ad oggi, acquisizioni simili non sono ancora emerse per la VK [75-79]. Attualmente, abbiamo diverse limitazioni prima di prescrivere una dieta consapevolmente VK-arricchita o supplementi di VK per un osso migliore. Inoltre, non abbiamo alcuna informazione chiara riguardo a quali marcatori biologici potrebbero essere più sensibili e accurati per valutare gli effetti positivi o negativi dell'assunzione di VK sullo scheletro. La valutazione dello stato di carbossilazione dell'OCN potrebbe potenzialmente rappresentare uno di questi bio-marcatori, ma abbiamo ancora problemi riguardanti la sensibilità e la specificità della valutazione dell'OCN, quali: 1) incomparabilità dei test utilizzati in diversi laboratori; 2) l'esistenza di variazioni fisiologiche dei livelli circolanti (10-15%); e 3) condivisione della componente sottocarbossilata, variabile. L'UC-OCN presenta una ridotta affinità di legame per la fase minerale, ma gli studi clinici con integratori di VK non hanno affrontato se i livelli di UC-OCN circolanti potrebbero migliorare sia la mineralizzazione ossea che la BMD e non è attualmente possibile stabilire se un'adeguata/massima carbossilazione di OCN, attraverso supplementazione VK, possa sempre portare ad un aumento della BMD e/o se possa esercitare maggiore effetti sulla BMD in pazienti con osteoporosi primaria o secondaria. Tuttavia, l'effetto di VK sulla BMD sembra essere più evidente in condizioni di osteoporosi, o in soggetti con insufficienza di vitamina D per le possibili interazioni tra VK e vitamina D. Pochissimi studi riportano l'assunzione totale di VK alla visita basale e ulteriori studi saranno necessari per comprendere il ruolo della VK sulla salute delle ossa in sottogruppi più a rischio per un'assunzione sub-ottimale. Gli studi futuri dovranno esaminare ulteriormente gli effetti di VK1 e K2 sui parametri ossei, tenendo anche conto che l'effetto della supplementazione di VK sulla BMD potrebbe essere "mascherato" in quelli con sufficiente apporto di VK [13]. La VK sembra essere importante per la salute dell'osso, anche se in realtà, basso apporto di VK, bassi livelli circolanti di VK e alti livelli UC-OCN sono tutti associati a un aumentato rischio di fratture dell'anca negli studi osservazionali [22]. Tuttavia, i risultati degli studi clinici sono ancora inconcludenti e non è certo se la supplementazione con VK1 o K2 riduca il rischio di fratture vertebrali, non vertebrali, a causa dei limiti metodologici degli studi stessi.

Per ulteriori dettagli e informazioni, anche quelle non contenute in questo capitolo, si suggerisce leggere la referenza [17].

BIBLIOGRAFIA

1. Dam H. The antihemorrhagic vitamin of the chick: occurrence and chemical nature. *Nature* 1935; 135: 652–653.
2. Dam H, Schonheyder F, Tage-Hansen E. Studies on the mode of action of vitamin K. *Biochem J* 1936; 30:1075-79.
3. Stenflo J, Fernlund P, Egan W, Roepstorff P. Vitamin K dependent modifications of glutamic acid residues in prothrombin. *Proc Natl Acad Sci USA* 1974; 71: 2730–2733.
4. Nelsestuen GL, Zytovicz TH, Howard JB. The mode of action of vitamin K Identification of gamma-carboxyglutamic acid as a component of prothrombin. *J Biol Chem* 1974; 249: 6347–6350.
5. Newman P, Bonello F, Wierzbicki AS et al. The uptake of lipoprotein-borne phylloquinone (vitamin K1) by osteoblasts and osteoblast-like cells: role of heparan sulfate proteoglycans and apolipoprotein E. *J. Bone Miner. Res.* 2002; 17: 426 – 433.
6. Niemeier A, Kassem M, Toedter K et al. Expression of LRP1 by human osteoblasts: a mechanism for the delivery of lipoproteins and vitamin K1 to bone. *J. Bone Miner. Res.* 2005; 20: 283-293.
7. Niemeier A, Niedzielska D, Secer R et al. Uptake of postprandial lipoproteins into bone in vivo: impact on osteoblast function. *Bone* 2008; 43: 230–237.
8. Thijssen HH, Vervoort LM, Schurgers LJ, Shearer MJ. Menadione is a metabolite of oral vitamin K. *Br J Nutr.* 2006;95(2):260-66.
9. Emaus N, Gjesdal CG, Almås B et al. Vitamin K2 supplementation does not influence bone loss in early menopausal women: a randomised double-blind placebo-controlled trial. *Osteoporos Int.* 2010; 21(10):1731-40.
10. Weber P. Vitamin K and bone health. *Nutrition.* 2001; 17(10):880-87.
11. Schurgers LJ, Teunissen KJ, Hamulyák K et al. Vitamin K-containing dietary supplements: comparison of synthetic vitamin K1 and natto derived menaquinone-7. *Blood* 2007; 109:3279–3283.
12. Ames BN. A theory of evolutionary allocation of scarce micronutrients by enzyme triage: adequate micronutrient nutrition to delay the degenerative diseases of aging. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; 103:17589-17594.
13. Cheung AM, Tile L, Lee Y, Tomlinson G et al. Vitamin K supplementation in postmenopausal women with osteopenia (ECKO trial): a randomized controlled trial. *PLoS Med.* 2008; 5(10): e196. doi: 10.1371/journal.pmed.0050196.
14. Fusaro M, Noale M, Viola V, et al. Vitamin K, vertebral fractures, vascular calcifications, and mortality: Vitamin K Italian (VIKI) dialysis Study. *J Bone Min Res* 2012; 27:2271-2278.
15. Boxma PY, Van Den Berg E, Geleijnse JM et al. Vitamin K intake and plasma desphospho-uncarboxylated matrix gla-protein levels in kidney transplant recipients. *Plos ONE* 2012; 7:e47991.
16. Westendorf R, Krueger T, Schlieper G et al. Effect of vitamin K2 supplementation on functional vitamin K deficiency in hemodialysis patients: a randomized trial. *Am J Kidney Dis* 2012; 59:86-195.
17. Cosso R, Falchetti A. Vitamin K and bone metabolism: the myth and the truth. *Expert Review of Precision Medicine and Drug Development* (accepted for publication).
18. Szulc P, Chapuy M-C, Meunier PJ, Delmas PD. Serum undercarboxylated osteocalcin is a marker of the risk of hip fracture in elderly women. *J Clin Invest* 1993; 91(4):1769-74.
19. Feskanich D, Weber P, Willett WC et al. Vitamin K intake and hip fractures in women: a prospective study. *Am J Clin Nutr* 1999; 69(1):74-9.
20. Yamauchi M, Yamaguchi T, Nawata K et al. Relationships between undercarboxylated osteocalcin and vitamin K intakes, bone turnover, and bone mineral density in healthy women. *Clin Nutr* 2010; 29(6):761-65.
21. Price PA. Role of vitamin-K-dependent proteins in bone metabolism. *Annu Rev Nutr*, 1988; 8:565-83.
22. Vermeer C. Vitamin K: the effect on health beyond coagulation - an overview. *Food Nutr Res.* 2012; 56.

23. Hosseini S, Naderi-Manesh H, Mountassif D et al. C-terminal amidation of an osteocalcin-derived peptide promotes hydroxyapatite crystallization. *J Biol Chem.* 2013; 288(11):7885-93.
24. Ferron M, Lacombe J. Regulation of energy metabolism by the skeleton: Osteocalcin and beyond. *Arch Biochem Biophys.* 2014; 561C:137-146.
25. Murshed M, Schinke T, McKee MD, Karsenty G. Extracellular matrix mineralization is regulated locally: different roles of two gla-containing proteins. *J Cell Biol* 2004; 165:625-630.
26. Boskey Al Gadaleta S, Gundberg C et al. Fourier transform infrared microspectroscopic analysis of bones of osteocalcin-deficient mice provides insight into the function of osteocalcin. *Bone* 1998; 23:187-196.
27. Lee NK, Sowa H, Hinoi E et al. Endocrine regulation of energy metabolism by the skeleton. *Cell* 2007; 130:456–69.
28. Ferron M, Hinoi E, Karsenty G, Ducy P. Osteocalcin differentially regulates beta cell and adipocyte gene expression and affects the development of metabolic diseases in wild-type mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008; 105:5266–5270.
29. Binkley N, Harke J, Krueger D, et al. Vitamin K treatment reduces undercarboxylated osteocalcin but does not alter bone turnover, density, or geometry in healthy postmenopausal North American women. *J Bone Miner Res* 2009; 24: 83-991.
30. Price PA, Urist MR, Otawara Y. Matrix Gla protein, a new gamma-carboxyglutamic acid-containing protein which is associated with the organic matrix of bone. *Biochem Biophys Res Commun* 1983; 117:765-71.
31. Maillard C, Berruyer M, Serre CM et al. Protein-S, a vitamin K-dependent protein, is a bone matrix component synthesized and secreted by osteoblasts. *Endocrinology* 1992; 130:1599-1604.
32. Viegas CS, Simes DC, Laize V et al. Gla-rich protein (GRP), a new vitamin K-dependent protein identified from sturgeon cartilage, and highly conserved in vertebrates. *J Biol Chem* 2008; 283:36655–36664.
33. Coutu DL, Wu JH, Monette A et al. Periostin, a member of a novel family of VK-dependent proteins, is expressed by mesenchymal stromal cells. *J Biol Chem* 2008; 283:17991-18001.
34. Rani S, Barbe M, Barr A, Litvin J. Periostin-like-factor and periostin in an animal model of work-related musculoskeletal disorder. *Bone* 2009; 44:502-512.
35. Rubinacci A. Expanding the functional spectrum of vitamin K in bone. Focus on: “Vitamin K promotes mineralization, osteoblast to osteocyte transition, and an anti-catabolic phenotype by γ -carboxylation-dependent and -independent mechanisms”. *Am J Physiol Cell Physiol* 2009; 297:C1336-C1338.
36. Atkins GJ, Welldon KJ, Wijenayaka AR et al. Vitamin K promotes mineralization, osteoblast to osteocyte transition, and an anti-catabolic phenotype by -carboxylation-dependent and -independent mechanisms. *Am J Physiol Cell Physiol* 2009; 297(6):C1358-67.
37. van Summeren MJ, Spliet WG, van Royen-Kerkhof A et al. Calcinosis in juvenile dermatomyositis: a possible role for the vitamin K-dependent protein matrix Gla protein. *Rheumatology (Oxford).* 2008; 47(3):267-71.
38. Amizuka N, Li M, Kobayashi M, Hara K et al. Vitamin K2, a gamma-carboxylating factor of gla-proteins, normalizes the bone crystal nucleation impaired by Mg-insufficiency. *Histol Histopathol.* 2008; 23(11):1353-66.
39. Yamaguchi M, Weitzmann MN. Vitamin K2 stimulates osteoblastogenesis and suppresses osteoclastogenesis by suppressing NF- κ B activation. *International Journal of Molecular Medicine* 2011; 27: 3-14.
40. Iwamoto J, Sato Y, Uzawa M et al. Experience with alendronate treatment for four years among Japanese men with osteoporosis or osteopenia and clinical risk factors for fractures. *Ther Clin Risk Manag.* 2010; 6:593-600.
41. Dodds RA, Catterall A, Bitensky L, Chayen J. Effects on fracture healing of an antagonist of the vitamin K cycle. *Calcif Tissue Int.* 1984; 36(2):233-8.

42. Morishita M, Nagashima M, Wauke K et al. Osteoclast inhibitory effects of vitamin K2 alone or in combination with etidronate or risedronate in patients with rheumatoid arthritis: 2-year results. *J Rheumatol* 2008; 35:407-413.
43. Katsuyama H, Otsuki T, Tomita M et al. Menaquinone-7 regulates the expressions of osteocalcin, OPG, RANKL and RANK in osteoblastic MC3T3E1 cells. *Int J Mol Med* 2005; 15:231-236.
44. Beulens JW, Booth SL, van den Heuvel EG et al. The role of menaquinones (vitamin K₂) in human health. *Br J Nutr*. 2013; 110(8):1357-68.
45. Ichikawa T, Nakazawa M, Kawashima M et al. The FOX hunting system: an alternative gain-of-function gene hunting technique. *Plant J*. 2006; 48(6):974-85.
46. Suttie JW, Booth SL. Vitamin K. *Adv Nutr*. 2011; 2(5):440-41.
47. Kanellakis S, Moschonis G, Tenta R et al. Changes in parameters of bone metabolism in postmenopausal women following a 12-month intervention period using dairy products enriched with calcium, vitamin D, and phylloquinone [vitamin K(1)] or menaquinone-7 [vitamin K (2)]: the Postmenopausal Health Study II. *Calcif Tissue Int*. 2012 ;90(4):251-62.
48. Ikeda Y, Iki M, Morita A, Kajita E et al. Intake of fermented soybeans, natto, is associated with reduced bone loss in postmenopausal women: Japanese Population-Based Osteoporosis (JPOS) Study. *J Nutr*. 2006; 136(5):1323-8.
49. Fujita Y, Iki M, Tamaki J et al. Association between vitamin K intake from fermented soybeans, natto, and bone mineral density in elderly Japanese men: the Fujiwara-kyo Osteoporosis Risk in Men (FORMEN) study. *Osteoporos Int*. 2012; 23(2):705-14.
50. Iwamoto J. Vitamin K2 therapy for postmenopausal osteoporosis. *Nutrients*. 2014; 6(5):1971-80.
51. Knapen MH, Schurgers LJ, Vermeer C. Vitamin K2 supplementation improves hip bone geometry and bone strength indices in postmenopausal women. *Osteoporos Int*. 2007; 18(7):963-72.
52. Knapen MH, Drummen NE, Smit E et al. Three-year low-dose menaquinone-7 supplementation helps decrease bone loss in healthy postmenopausal women. *Osteoporos Int*. 2013; 24(9):2499-507.
53. Feskanich D, Weber P, Willett WC et al. Vitamin K intake and hip fractures in women: a prospective study. *Am J Clin Nutr*. 1999; 69(1):74-9.
54. Shea MK and Booth SL: Update on the role of vitamin K in skeletal health. *Nutr Rev* 2008; 66: 549-557.
55. Booth SL, Tucker KL, Chen H et al. Dietary vitamin K intakes are associated with hip fracture but not with bone mineral density in elderly men and women. *Am J Clin Nutr*. 2000; 71(5):1201-8.
56. Torbergson AC, Watne LO, Wyller TB et al. Vitamin K1 and 25(OH)D are independently and synergistically associated with a risk for hip fracture in an elderly population: a case control study. *Clin Nutr*. 2015; 34(1):101-06.
57. Macdonald HM, McGuigan FE, Lanham-New SA et al. Vitamin K1 intake is associated with higher bone mineral density and reduced bone resorption in early postmenopausal Scottish women: no evidence of gene-nutrient interaction with apolipoprotein E polymorphisms. *Am J Clin Nutr*. 2008; 87(5):1513-20.
58. Booth SL. Roles for vitamin K beyond coagulation. *Annu Rev Nutr*. 2009; 29:89-110.
59. Tsugawa N, Shiraki M, Suhara Y et al. Low plasma phylloquinone concentration is associated with high incidence of vertebral fracture in Japanese women. *J Bone Miner Metab*. 2008; 26(1):79-85.
60. Cockayne S, Adamson J, Lanham-New S et al. Vitamin K and the prevention of fractures: systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Arch Intern Med*. 2006; 166(12):1256-61.
61. Fang Y, Hu C, Tao X, Wan Y, Tao F. Effect of vitamin K on bone mineral density: a meta-analysis of randomized controlled trials. *J Bone Miner Metab*. 2012; 30(1):60-8.
62. Kim MS, Kim ES, Sohn CM. Dietary intake of vitamin K in relation to bone mineral density in Korea adults: The Korea National Health and Nutrition Examination Survey (2010-2011). *J Clin Biochem Nutr*. 2015; 57(3):223-27.
63. Inoue T1, Fujita T, Kishimoto H et al. Randomized controlled study on the prevention of osteoporotic fractures (OF study): a phase IV clinical study of 15-mg menatetrenone capsules. *J Bone Miner Metab*. 2009; 27(1):66-75.

64. Hirao M1, Hashimoto J, Ando W et al. Response of serum carboxylated and undercarboxylated osteocalcin to alendronate monotherapy and combined therapy with vitamin K2 in postmenopausal women. *J Bone Miner Metab*. 2008; 26(3):260-4.
65. Kasukawa Y, Miyakoshi N, Ebina T et al. Effects of risedronate alone or combined with vitamin K2 on serum undercarboxylated osteocalcin and osteocalcin levels in postmenopausal osteoporosis. *J Bone Miner Metab*. 2014; 32(3):290-97.
66. Caraballo PJ, Gabriel SE, Castro MR et al. Changes in bone density after exposure to oral anticoagulants: a meta-analysis. *Osteoporos Int*. 1999; 9(5):441-48.
67. Gage BF, Birman-Deych E, Radford MJ et al. Risk of osteoporotic fracture in elderly patients taking warfarin: results from the National Registry of Atrial Fibrillation 2. *Arch Intern Med*. 2006;166(2):241-46.
68. Tsugawa N, Okano T. Vitamin K and fracture. *Clin Calcium*. 2010; 20(9):1334-40.
69. Shiraki M, Yamazaki Y, Shiraki Y et al. High level of serum undercarboxylated osteocalcin in patients with incident fractures during bisphosphonate treatment. *J Bone Miner Metab*. 2010; 28(5):578-84.
70. Avila ML, Pullenayegum E, Williams S et al. Timing of low bone mineral density and predictors of bone mineral density trajectory in children on long-term warfarin: a longitudinal study. *Osteoporos Int*. 2015 Nov 16. [Epub ahead of print].
71. Namba S, Yamaoka-Tojo M, Hashikata T et al. Long-term warfarin therapy and biomarkers for osteoporosis and atherosclerosis. *BBA Clin*. 2015; 4:76-80.
72. Diament M, MacLeod K, O'Hare J et al. Early Trigger" Intravenous Vitamin K: Optimizing Target-Driven Care in Warfarinised Patients With Hip Fracture. *Geriatr Orthop Surg Rehabil*. 2015; 6(4):263-68.
73. Fusaro M, Crepaldi G, Maggi S et al. Bleeding, vertebral fractures and vascular calcifications in patients treated with warfarin: hope for lower risks with alternative therapies. *Curr Vasc Pharmacol*. 2011; 9(6):763-69.
74. Guralp O, Erel CT. Effects of vitamin K in postmenopausal women: mini review. *Maturitas*. 2014; 77(3):294-99.
75. Ensrud KE, Taylor BC, Paudel ML et al. Serum 25-hydroxyvitamin D levels and rate of hip bone loss in older men. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009; 94(8):2773-80.
76. Adami S, Bertoldo F, Braga V et al. 25-hydroxy vitamin D levels in healthy premenopausal women: association with bone turnover markers and bone mineral density. *Bone*. 2009; 45(3):423-26.
77. Barrett-Connor E, Laughlin GA, Li H et al. The association of concurrent vitamin D and sex hormone deficiency with bone loss and fracture risk in older men: the osteoporotic fractures in men (MrOS) study. *J Bone Miner Res*. 2012; 27(11):2306-13.
78. Buchebner D, McGuigan F, Gerdhem P et al. Vitamin D insufficiency over 5 years is associated with increased fracture risk-an observational cohort study of elderly women. *Osteoporos Int*. 2014; 25(12):2767-75.
79. Avenell A, Mak JC, O'Connell D. Vitamin D and vitamin D analogues for preventing fractures in post-menopausal women and older men. *Cochrane Database Syst Rev*. 2014 Apr 14;4:CD000227. doi: 10.1002/14651858.CD000227.pub4.
80. Deans RJ, Moseley AB. Mesenchymal stem cells: biology and potential clinical uses. *Exp Hematol* 2000; 28:875-884.
81. Xiao Q, Murphy RA, Houston DK et al. Dietary and Supplemental Calcium Intake and Cardiovascular Disease Mortality: The National Institutes of Health-AARP Diet and Health Study. *JAMA Intern Med* 2013; 4:1-8.
82. Sakamoto W, Isomura H, Fujie K et al. The effect of vitamin K2 on bone metabolism in aged female rats. *Osteoporos Int*. 2005; 16(12):1604-10.
83. Iwamoto J. Anti-fracture efficacy of vitamin K. *Clin Calcium*. 2009; 19(12):1805-14.

IL TERIPARATIDE NEL TRATTAMENTO DELLE FRATTURE

Luca Pietrogrande*, Emanuela Raimondo**

* Dipartimento di Scienze della Salute Università degli Studi di Milano

** Unità Operativa Azienda Ospedaliera San Paolo

INTRODUZIONE

Fin dalle prime applicazioni sperimentali il teriparatide ha mostrato spiccati effetti positivi sulla riparazione dei difetti ossei, sulla riparazione delle fratture e sull'annessione di impianti metallici nell'osso [1,2,3]. Questa capacità, ben dimostrata sull'animale da esperimento e meno sull'uomo, è sicuramente da ricondurre al suo meccanismo d'azione anabolico e costituisce una risorsa particolarmente attrattiva soprattutto per l'ortopedico.

La consolidazione delle fratture avviene, infatti, tramite meccanismi fisiopatologici estremamente complessi [4]; nonostante la maggior parte delle fratture guarisca senza andare incontro a complicanze, nel 10% dei casi si assiste allo sviluppo di ritardi di consolidazione [5], ma anche in situazioni ottimali sono necessari mesi perché una frattura guarita acquisisca competenze meccaniche sufficienti a sopportare un normale carico fisiologico con ovvie conseguenze sociali ed economiche. Non stupisce quindi che negli anni vi sia un sempre maggiore interesse nei confronti di terapie che possano stimolare la riparazione delle fratture e permettere un più rapido ritorno alla vita attiva e lavorativa.

Nel presente capitolo rivedremo i dati sperimentali e successivamente quelli clinici a disposizione sull'utilizzo del teriparatide nella guarigione delle fratture.

TERIPARATIDE

Il teriparatide, ossia la porzione 1-34 N-terminale della molecola del paratormone (PTH) prodotta con tecnologia ricombinante, è l'unico farmaco anabolico attualmente disponibile in commercio in Italia.

Dal 2002 Teriparatide è stato approvato dalla FDA per il trattamento dell'osteoporosi post-menopausale, da glucocorticoidi, e maschile, da ipogonadismo maschile o idiopatico ad alto rischio di frattura. La dose attualmente raccomandata è di 20 µg al giorno per una durata massima del trattamento di 24 mesi [4]. Al di là di questo utilizzo riconosciuto del farmaco, fin da subito vi è stato grande interesse circa la possibilità di un suo utilizzo in altre problematiche muscolo scheletriche, come le artrodesi vertebrali [7], il trattamento dell'osteonecrosi della mandibola [8] o della testa femorale [9] e ormai vi sono evidenze sperimentali e cliniche che suggeriscono una capacità del farmaco nell'accelerare la consolidazione delle fratture e nel guarire le pseudoartrosi.

La funzione principale del PTH nel nostro organismo è mantenere l'omeostasi del calcio in risposta ad uno stimolo ipocalcemico aumentando il riassorbimento osseo e l'assorbimento intestinale e renale del calcio, che fisiologicamente si esplica temporaneamente nei periodi di digiuno. La somministrazione di PTH, tramite i recettori posti sulle cellule della serie osteoblastica, porta ad un aumento di RANKL e a una riduzione di OPG stimolando rapidamente (14 minuti) l'attività osteoclastica per un periodo di qualche ora se la calcemia torna normale. Contemporaneamente però inducono una proliferazione dei precursori degli osteoblasti e stimolano la loro differenzia-

zione in osteoblasti attivi, con un conseguente aumento della produzione di tessuto osteoide, che perdura nel tempo. Con l'infusione continua prevale la stimolazione osteoclastica, mentre con quella intermittente, come avviene per la somministrazione del farmaco teriparatide, in presenza di corretto apporto di calcio e vitamina D, prevale l'azione osteoanabolica. [10]

Per quanto riguarda la guarigione delle fratture, sembrerebbe che l'azione di Teriparatide influenzi la stimolazione delle fasi precoci della formazione di callo osseo endocondrale. Sembra infatti che sia in grado di stimolare la condrogenesi a livello del callo osseo, tramite il sistema regolatorio PTHrP/Ihh, e accelerando la trasformazione della cartilagine in osso, attraverso la maturazione e la mineralizzazione dei condrociti, mediante la stimolazione della via canonica di Wnt. [11]

La via canonica di Wnt/beta-catenina è responsabile della differenziazione delle cellule staminali mesenchimali in cellule della linea osteoblastica. Questo avviene tramite il legame di Wnt ai corecettori LRP5/6 e Frizzled sulla superficie cellulare, con conseguente blocco della degradazione della beta-catenina intracellulare, che si trasloca al nucleo e stimola la trascrizione di geni target negli osteoblasti. [12]

STUDI SUI MODELLI ANIMALI

Numerosi studi sui modelli animali di diverse specie hanno dimostrato che Teriparatide è in grado di stimolare la riparazione delle fratture.

Il primo tra questi risale al 1999 ad opera di Andreassen et al [1] che hanno trattato fratture monolaterali di tibia di ratto con somministrazione intermittente di Teriparatide alla dose di 60 e 200 µg/kg/giorno e hanno evidenziato un aumento della resistenza alle forze di trazione del 75% nel gruppo ad alto dosaggio dopo 20 giorni e in entrambi i gruppi dopo 40 giorni. Le dimensioni del callo, il suo volume e il suo contenuto minerale osseo sono risultati aumentati dopo 20 giorni nel gruppo ad alto dosaggio e dopo 40 giorni in entrambi i gruppi.

Skripitz e Aspenberg hanno trattato con 60µg/kg di Teriparatide ratti maschi in cui era stata impiantata a livello tibiale una vite o un pin, e hanno evidenziato un miglioramento nella fissazione (valutazioni meccaniche ed istologiche) precoce dei mezzi di sintesi rispetto ad un gruppo controllo non in terapia. Questo grazie ad un aumento della densità dell'osso a livello dell'impianto e della superficie di contatto osso-impianto. [2,3]

Sempre Skripitz e Aspenberg hanno analizzato la resistenza di mezzi di sintesi cementati a tibie di ratti maschi, dimostrando come la somministrazione di 60µg/kg di Teriparatide aumenti la forza necessaria a staccare l'impianto dall'osso, suggerendo quindi una potenziale capacità del farmaco di stimolare l'osteointegrazione di impianti ortopedici cementati. [13]

La somministrazione di 30µg/kg/die e di 80µg/kg/die di teriparatide in ratti con frattura di femore ha mostrato un miglioramento della guarigione a partire dalla terza settimana di terapia con aumento della resistenza della cartilagine, del contenuto minerale osseo e del volume del callo osseo. [14,15]

Nel 2005 Komatsubara et al hanno dimostrato che Teriparatide alla dose intermittente di 30µg/kg/die prima e dopo osteotomia di femore è in grado di accelerare la guarigione dopo 12 settimane di trattamento. [16] Nel 2010 Mognetti et al hanno notato come 40µg/kg/die di Teriparatide stimolino la mineralizzazione del callo osseo e accelerino la sua formazione in topi femmina. [17]

Sono stati compiuti studi anche su animali che presentano un corredo genetico più simile all'essere umano, in particolare ad opera di Manabe et al. su scimmie *Cynomolgus* che presentano un meccanismo di rimodellamento intracorticale simile all'uomo. La somministrazione di teriparatide due volte alla settimana a basso (0.75 µg/kg) e alto (7.5 µg/kg) dosaggio ha portato ad una guarigione della frattura di femore con callo di minori dimensioni, maggiormente mineralizzato e con migliori proprietà meccaniche. [18]

Dal momento che un rischio maggiore di ritardi di consolidazione della fratture si ha in presenza di osteoporosi, sono stati compiuti studi su topi femmina ovariectomizzati. Il trattamento con 30µg/kg/die di Teriparatide di fratture di tibia ha portato allo sviluppo di un callo osseo aumentato con migliori proprietà meccaniche rispetto al gruppo placebo. [19]

Studi istologici hanno evidenziato come il trattamento con Teriparatide sia associato ad una diminuzione del numero e del volume degli adipociti a livello del midollo osseo degli animali ovariectomizzati rispetto ai controlli. Questo ha suggerito che vi sia una stimolazione dell'osteoblastogenesi e una riduzione della adipogenesi a livello del sito di osteotomia con conseguente aumento della capacità di guarigione dell'osso in ratti ovariectomizzati e non. [20] Risultati simili sono stati ottenuti anche in topi trattati con corticosteroidi. [21]

STUDI SULL'UOMO

Attualmente sono disponibili solo due studi randomizzati controllati per l'utilizzo di Teriparatide o del paratormone sull'uomo nella riparazione delle fratture.

Il primo ad opera di Aspenberg et al che hanno esaminato 102 donne in postmenopausa di età compresa tra 45 e 85 anni con frattura di Colles trattata conservativamente. Il tempo medio per evidenziare radiograficamente una guarigione è stato di 9.1 settimane nel gruppo placebo e di 7.4 settimane e 8.8 settimane nei gruppi trattati rispettivamente con 20µg e 40µg di Teriparatide. Non vi era differenza significativa nei tempi di guarigione tra il gruppo trattato con alta o bassa dose di Teriparatide, pertanto lo studio fallì il suo obiettivo primario di dimostrare una capacità dose dipendente di ridurre i tempi di guarigione delle fratture. Analisi post hoc hanno però dimostrato una differenza significativa tra i pazienti trattati con placebo e i pazienti trattati con 20µg di Teriparatide nella qualità del callo osseo.[22]

Peichl et al hanno valutato nel 2011 con uno studio prospettico randomizzato caso-controllo gli effetti del PTH 1-84 sui tempi di guarigione e outcome funzionale di donne in menopausa affette da frattura pelvica. Hanno valutato 75 donne divise in due gruppi: un gruppo di controllo e un gruppo trattato con 100 µg di PTH 1-84 al giorno iniziato entro due giorni dalla dimissione dall'ospedale, insieme a calcio e vitamina D. Il tempo medio per evidenziare un ponte corticale a livello della frattura valutato tramite TAC è stato di 7.8 settimane per il gruppo in terapia rispetto alle 12.6 settimane del gruppo controllo. All'end-point primario di 8 settimane il 100% delle fratture in terapia erano guarite contro il 9.1% del gruppo controllo. Anche l'outcome funzionale del gruppo in trattamento, valutato tramite scala VAS del dolore e Time Up and Go test, risultava significativamente migliore rispetto al gruppo controllo. Gli autori dello studio hanno notato che nonostante la molecola utilizzata non sia identica al Teriparatide, il lasso di tempo necessario alla guarigione della frattura era simile a quello osservato nel trattamento delle fratture pelviche con Teriparatide al dosaggio standard.[23]

Nel corso degli anni sono stati pubblicati numerosi case reports sull'utilizzo di Teriparatide nel trattamento dei ritardi di consolidazione.

Chintamaneni ha riportato il caso di una donna di 67 anni con una frattura sternale in pseudoartrosi atrofica dolorosa. A sei mesi di distanza dall'evento traumatico ha iniziato Teriparatide al dosaggio di 20µg al giorno sottocute e dopo 3 mesi di terapia ha mostrato segni di guarigione, risultata completa dopo 9 mesi di terapia.[24]

Brunnemann ha riportato tre casi di ritardi di consolidazione, due a livello della diafisi femorale e uno a livello radiale, che sono guariti dopo un massimo di 10 settimane di terapia con Teriparatide a dosi variabili da 20 a 60µg al giorno [25]

Angel Oteo-Alvaro ha descritto un caso di pseudoartrosi atrofica diafisaria di omero trattata con inchiodamento endomidollare elastico guarita completamente dopo 5 mesi di terapia con Teriparatide 20µg al giorno.[26]

Lee ha descritto il caso di 3 pseudoartrosi femorali guarite completamente dopo 3-9 mesi di trattamento con Teriparatide 20µg al giorno. t[27]

Pietrogrande e Raimondo hanno riportato il caso di una paziente affetta da pseudoartrosi di frattura periprotetica di femore incorsa dopo una lunga terapia con bisfosfonati. La frattura è andata incontro a guarigione dopo 18 mesi di terapia con Teriparatide 20µg al giorno [28]

Huang ha analizzato retrospettivamente pazienti trattate con placca DHS per frattura pertrocantaria instabile di femore, evidenziando una riduzione significativa del tempo di guarigione della frattura nel gruppo trattato con Teriparatide rispetto al gruppo controllo. Nel gruppo in terapia inoltre ha evidenziato una ridotta incidenza di fallimenti dell'impianto e di accorciamento femorale. [29]

Recentemente sono state descritte anche terapie combinate con Teriparatide associato a campi elettromagnetici pulsati, nel caso di una pseudoartrosi conseguente ad osteotomia di accorciamento ulnare [30] e nel caso di una pseudoartrosi della diafisi femorale [31], entrambi trattati con successo.

AUTORE	Pazienti	Sede	Dose	Durata	Risultato
Chintamaneni	1	sterno	20µg die	3-9 mesi	guarigione
Brunnemann	3	femore radio	20-60 µg die	10 settimane	guarigione
Oteo-Alvaro	1	omero	20µg die	5 mesi	guarigione
Lee	3	femore	20µg die	3-9 mesi	guarigione
Pietrogrande	1	femore	20µg die	18 mesi	guarigione
Uemura	2	ulna	20 µg die+LIPUS	6-10 mesi	guarigione
Nozaka	1	femore	TPTD+LIPUS	6 mesi	guarigione

Tabella1. Utilizzo di TPTD nel trattamento delle pseudoartrosi: casi clinici pubblicati

TRATTAMENTO DELLE FRATTURE ATIPICHE

Le fratture atipiche sono fratture da stress che non vengono riparate dall'organismo a causa di una soppressione del turn over osseo dovuta a farmaci come i bisfosfonati e i glucocorticoidi o a condizioni intrinseche dell'osso come il deficit di estrogeni. L'utilizzo di un farmaco anabolico come il Teriparatide nel trattamento delle fratture atipiche incomplete e nelle fratture atipiche complete in aggiunta alla chirurgia ha suscitato grande interesse nella comunità medica.

Dall'analisi istomorfometrica di biopsie transiliache di pazienti con frattura femorale atipica in terapia da lungo tempo con bisfosfonati (alendronato), Miller suggerisce come l'assunzione di Teriparatide sembrerebbe in effetti aumentare il turnover osseo, anche nei pazienti che presentavano prima della terapia un turnover assente. [32]

Recentemente è stata pubblicata un'analisi retrospettiva di 45 casi di frattura atipica di femore trattate o meno con Teriparatide; le pazienti in terapia hanno mostrato tempi di guarigione più rapidi e una minore incidenza di ritardi di consolidazione. [33]

Analogamente l'analisi prospettica di 14 pazienti affette da frattura atipica di femore ha dimostrato con l'utilizzo di Teriparatide un aumento variabile da due a tre volte dei valori dei markers di rimodellamento osseo e guarigione della frattura. L'analisi QCT ad alta risoluzione ha inoltre evidenziato nelle pazienti in terapia una riduzione dell'osso più vecchio e intensamente mineralizzato sia a livello radiale che tibiale a favore di un aumento dell'osso più giovane meno mineralizzato [34]

CONCLUSIONI

Teriparatide costituisce la porzione attiva della molecola del PTH ed è universalmente riconosciuto come farmaco efficace per il trattamento dell'osteoporosi.

Le numerose ricerche compiute nel corso degli anni utilizzando modelli animali hanno mostrato come tale molecola sia anche in grado di stimolare la guarigione delle fratture; significativi miglioramenti per quanto concerne la maturazione del callo osseo, con conseguenze positive su volume del callo osseo, contenuto minerale osseo, resistenza del callo e percentuale di guarigione, sono stati dimostrati infatti sia in modelli di guarigione delle fratture in animali normali ed osteoporotici, sia in modelli di pseudoartrosi.

Gli studi sugli esseri umani constano ad ora di un solo studio RCT, con risultato non univoco, e di diversi case reports. Nonostante i risultati sull'essere umano sembrino confermare quelli ottenuti sui modelli animali, non è ovviamente possibile una trasposizione diretta dei dati.

Ulteriori studi randomizzati caso controllo accuratamente disegnati sono indispensabili per fornire una analisi conclusiva degli effetti di Teriparatide sulla guarigione delle fratture nell'essere umano in modo da poterlo definitivamente includere o meno come terapia nel trattamento delle fratture e dei ritardi di consolidazione. Negli studi sulla riparazione delle fratture nell'uomo, però, esiste, allo stato attuale, un importante limite metodologico dovuto alla difficoltà nel misurare l'evoluzione dei processi riparativi, sia da un punto di vista quantitativo, che temporale e questo limite rende conto della difficoltà nell'impostare protocolli in tal senso.

BIBLIOGRAFIA

1. Andreassen TT, Ejersted C, Oxlund H (1999) Intermittent parathyroid hormone (1–34) treatment increases callus formation and mechanical strength of healing rat fractures. *J Bone Miner Res* 14:960–968
2. R Skripitz, P Aspenberg. Early Effect of Parathyroid Hormone(1–34) on Implant Fixation. *Clin Orth and Rel Res* 392 (2001) 427–432
3. R Skripitz, P Aspenberg. Implant fixation enhanced by intermittent treatment with parathyroid hormone. *J Bone Joint Surg {Br}* 2001;83-B:437-40
4. Wraighte PJ, Scammell BE. Principles of fracture healing. *Surgery* 2006;24:198–207.
5. Frölke JP, Patka. Definition and classification of fracture non-unions. *Injury* 2007;38:S19–22.
6. Andrews EB et al (2012) The US postmarketing surveillance study of adult osteosarcoma and teriparatide: study design and findings from the first 7 years. *J Bone Miner Res* 27(12):2429–2437
7. Yamachika E, Matsubara M, Ikeda A, Matsumura T, Moritani N, Iida S Treatment of Osteonecrosis of the Jaw. *J Craniofac Surg*. 2015 Oct;26(7):e575-7
8. Ohtori S et al More than 6 Months of Teriparatide Treatment Was More Effective for Bone Union than Shorter Treatment Following Lumbar Posterolateral Fusion Surgery. *Asian Spine J*. 2015 Aug;9(4):573-80
9. Donget al. Systemic application of teriparatide for steroid induced osteonecrosis in a rat model. *BMC Musculoskeletal Disorders* (2015) 16:163
10. A. Nardi, L. Ventura et Al. The bone anabolic therapy. *Aging Clin Exp Res* (2013) 25 (Suppl 1):S121–S124
11. Kakar S, Einhorn T A et al. Enhanced Chondrogenesis and Wnt Signaling in PTH-Treated Fractures. *J Bone Miner Res* (2007) 22(12):1903–1912
12. N M Iniguez-Ariza, B L Clarke. Bone biology, signaling pathways, and therapeutic targets for osteoporosis. *Maturitas* 82 (2015) 245–255
13. R Skripitz, P Aspenberg. Parathyroid hormone (1–34) increases attachment of PMMA cement to bone *J Orthop Sci* (2001) 6:540–544
14. Alkhiary YM, Gerstenfeld LC, Krall E, Westmore M, Sato M, Mitlak BH, Einhorn TA. Enhancement of experimental fracture healing by systemic administration of recombinant human parathyroid hormone (PTH 1–34). *J Bone Joint Surg Am* 2005;87:731–41.
15. Morgan EF, Mason ZD, Bishop G, Davis AD, Wigner NA, Gerstenfeld LC, Einhorn TA. Combined effects of recombinant human BMP-7 (rhBMP-7) and parathyroid hormone (1–34) in metaphyseal bone healing. *Bone* 2008;43:1031–8
16. Komatsubara S et al. Human parathyroid hormone (1-34) accelerates the fracture healing process of woven to lamellar bone replacement and new cortical shell formation in rat femora. *Bone* 2005; 36: 678-687
17. Mognetti B et al. Experimental stimulation of bone healing with teriparatide: histomorphometric and microhardness analysis in a mouse model of closed fracture. *Calcif Tissue Int* 2011; 89: 163-171
18. Manabe T, Mori S, Mashiba T, Kaji Y, Iwata K, Komatsubara S, Seki A, Sun YX, Yamamoto T. Human parathyroid hormone (1–34) accelerates natural fracture healing process in the femoral osteotomy model of cynomolgus monkeys. *Bone* 2007;40:1475–82.
19. Ellegaard M, Jørgensen NR, Schwarz P. Parathyroid hormone and bone healing. *Calcif Tissue Int* 2010;87:1-13
20. Nozaka K, Miyakoshi N, Kasukawa Y, Maekawa S, Noguchi H, Shimada Y. Intermittent administration of human parathyroid hormone enhances bone formation and union at the site of cancellous bone osteotomy in normal and ovariectomized rats. *Bone* 2008; 42: 90-97

21. Bostrom MP, Gamradt SC, Asnis P, Vickery BH, Hill E, Avnur Z, Waters RV. Parathyroid hormone-related protein analog RS-66271 is an effective therapy for impaired bone healing in rabbits on corticosteroid therapy. *Bone* 2000; 26: 437-442
22. Aspenberg P, Genant HK, Johansson T, Nino AJ, See K, Krohn K, GarcíaHernández PA, Recknor CP, Einhorn TA, Dalsky GP, Mitlak BH, Fierlinger A, Lakshmanan MC. Teriparatide for acceleration of fracture repair in humans: a prospective, randomized, double-blind study of 102 postmenopausal women with distal radial fractures. *J Bone Miner Res* 2010;25:404-14.
23. Peichl P, Holzer LA, Maier R, Holzer G. Parathyroid Hormone 1-84 Accelerates Fracture-Healing in Pubic Bones of Elderly Osteoporotic Women. *J Bone Joint Surg Am* 2011;93:1583-7.
24. Chintamaneni S, Finzel K, Gruber BL. Successful treatment of sternal fracture non-union. *Osteoporos Int* 2010;21:1059-63.
25. Brunneemann C.E., Reisinger E.C., Ganzer D. and Schober H.C. Parathyroid hormone injection to counteract delayed bone fractures. *Dtsch Med Wochenschr* 2010;135(31-32):1538-41.
26. Oteo-Alvaro A, Moreno E. Atrophic humeral shaft nonunion treated with teriparatide (rh PTH 1-34): a case report. *J Shoulder Elbow Surg* 2010;19:e22-8.
27. Lee YK, Ha YC, Koo KH. Teriparatide, a nonsurgical solution for femoral nonunion? A report of three cases. *Osteoporos Int* 2012;23(12):2897-900
28. Pietrogrande L, Raimondo E. Teriparatide in the treatment of non-unions: Scientific and clinical evidences. *Injury, Int. J. Care Injured* 44 (2013) S1, S54-S57
29. Huang TW et al. Effect of teriparatide on unstable pertrochanteric fractures. *Biomed Res Int.* 2015;2015:568390
30. Uemura T, Okada M, Yokoi T, Shintani K, Nakamura H. Successful Bone Healing of Nonunion After Ulnar Shortening Osteotomy for Smokers Treated With Teriparatide. *Orthopedics.* 2015 Aug;38(8):e733-7
31. Nozaka K, Shimada Y, Miyakoshi N, Yamada S, Hongo M, Kasukawa Y, Saito H, Kijima H. Combined effect of teriparatide and low-intensity pulsed ultrasound for nonunion: a case report. *BMC Res Notes.* 2014 May 27;7:317
32. P D Miller, E F McCarthy. Bisphosphonate-associated atypical sub-trochanteric femur fractures: Paired bone biopsy quantitative histomorphometry before and after teriparatide administration. *Seminars in Arthritis and Rheumatism* 44 (2015) 477-482
33. N Miyakoshi, T Aizawa et al. Healing of bisphosphonate-associated atypical femoral fractures in patients with osteoporosis: a comparison between treatment with and without teriparatide. *J Bone Miner Metab* (2015) 33:553-559
34. C Y Chiang, R Zebaze, A Ghasem-Zadeh, S Iuliano-Burns, A Hardidge, E Seeman. Teriparatide improves bone quality and healing of atypical femoral fractures associated with bisphosphonate therapy. *Bone* 52 (2013) 360-365

OSTEONECROSI DEI MASCELLARI: RUOLO DEL TERIPARATIDE

Ombretta Di Munno

U.O. Reumatologia, Università di Pisa

INTRODUZIONE

L'utilizzo dei bisfosfonati (BPs), che rappresentano a tutt'oggi il trattamento di prima scelta dell'osteoporosi (OP) primaria e di quella indotta da glucocorticoidi (GC) ha determinato una significativa riduzione dell'incidenza di fratture (Fx), incrementi della densità minerale ossea e riduzione del rimodellamento osseo (BT); in coincidenza con la loro crescente diffusione nel mercato dei farmaci, sia in Canada che in US, la riduzione delle Fx femorali è arrivata al 30% [1, 2]. Tuttavia, negli ultimi anni, sempre più numerose sono state le segnalazioni relative alla possibile relazione fra l'uso di questi farmaci, soprattutto se prolungato, e la comparsa di un serio evento avverso rappresentato dall'osteonecrosi dei mascellari (ONJ) [3-7]. Di tale evento anche le più recenti rassegne e i documenti delle società scientifiche ne sottolineano peraltro la comparsa anche in pazienti non esposti a tali trattamenti, la bassa incidenza, soprattutto quando si considerano pazienti non oncologici trattati per OP ed un profilo rischi/benefici sicuramente favorevole in termini di Fx evitate [8, 9].

L'OP rappresenta un problema medico-sociale di crescente impatto per l'invecchiamento della popolazione mondiale ed anche l'utilizzo dei BPs e di altri farmaci per la prevenzione ed il trattamento dell'OP e delle Fx che ne conseguono è destinato ad aumentare; pertanto questa possibile complicanza è oggetto di meta-analisi, documenti e raccomandazioni di numerose società scientifiche in termini di epidemiologia, meccanismi patogenetici, fattori di rischio, prevenzione e trattamento.

OSTEONECROSI DEI MASCELLARI

L'ONJ [7], la cui prima segnalazione in pazienti oncologici trattati con BPs, specificamente amino-BPs (N-BPs), per malattia metastatica scheletrica risale al 2003 [10], è stata oggetto di crescente interesse negli anni successivi per la sua comparsa, come recentemente documentato [11], anche in pazienti con OP non oncologici, in trattamento con BPs sia intravenosi che orali e in assenza di precedenti traumi o procedure invasive del cavo orale, seppur con un rischio 100 volte inferiore [12]. Numerose società scientifiche come la Task Force dell'ASBMR [13] e la Task Force Internazionale dell'ONJ [8], l'Associazione americana dei chirurghi orali e maxillofacciali [9, 12], quella degli odontoiatri australiani [4] e nordamericani [14], la stessa FDA [15] ne hanno valutato l'impatto epidemiologico, i meccanismi patogenetici, i fattori di rischio, la diagnosi ed i vari stadi di severità, le strategie di prevenzione e trattamento in rapporto al grado di severità.

Alla luce di più recenti evidenze che hanno documentato la comparsa di ONJ non solo in pazienti con OP [5, 6, 11] in terapia con BPs, ma anche in pazienti, prevalentemente oncologici, [9, 14, 16-18] in trattamento con un altro potente antiassorbitivo come il denosumab (DNB) o con farmaci antiangiogenici [8, 12], è stato proposto che l'ONJ, definita da: 1) trattamento in corso o precedente con farmaci antiassorbitivi o antiangiogenici, 2) zona esposta di osso o presenza di fistola ossea intra- o extraorale nella regione maxillo-facciale che persiste da più di 8 settimane, 3) nessuna

storia di terapia radioattiva o di malattia metastatica nella regione mascellare, sia più correttamente identificata come MRONJ (Medication Related ONJ) [12].

L'esatta prevalenza ed incidenza di questo evento, nonostante le numerose rassegne e documenti, rimangono molto variabili [7]. Uno dei numerosi studi di popolazione, condotto in Australia, ha riportato una prevalenza stimata di 0,88%-1,15% in pazienti oncologici trattati con BPs intravenosi verso una prevalenza di 0,01%-0,04% in pazienti osteoporotici trattati con BPs orali [19] e il documento della Task Force dell'ASBMR riporta in quest'ultima categoria di pazienti, una incidenza stimata fra 1/10.000 e <1/100.000 pazienti/anno [13]. Nel recente documento della Task Force Internazionale dell'ONJ [8], l'incidenza percentuale stimata di ONJ nei pazienti osteoporotici risulta compresa fra 0.001 e 0.01, di poco più elevata di quella nella popolazione generale (<0,001); più specificamente l'incidenza stimata nei pazienti trattati con BPs orali risulta compresa fra 1.04 e 69 casi su 100.000 pazienti/anno, quella nei pazienti trattati con BPs intravenosi fra 0 e 90 e quella nei pazienti trattati con DNB fra 0 e 30,2. L'incidenza di tale complicanza risulta inoltre essere aumentata per l'esposizione prolungata, in particolare se oltre i 4 anni e per le formulazioni intravenose rispetto a quelle orali [8, 12].

La patogenesi dell'ONJ (Figura 1), per alcuni aspetti non ancora del tutto chiarita, sembra comunque riconoscere come fattore determinante, in analogia con la patogenesi delle Fx femorali atipiche [20, 21], altro evento avverso documentato in pazienti in trattamento con BPs e DNB, l'inibizione dell'attività, differenziazione e sopravvivenza degli osteoclasti (OCs) con conseguente riduzione del

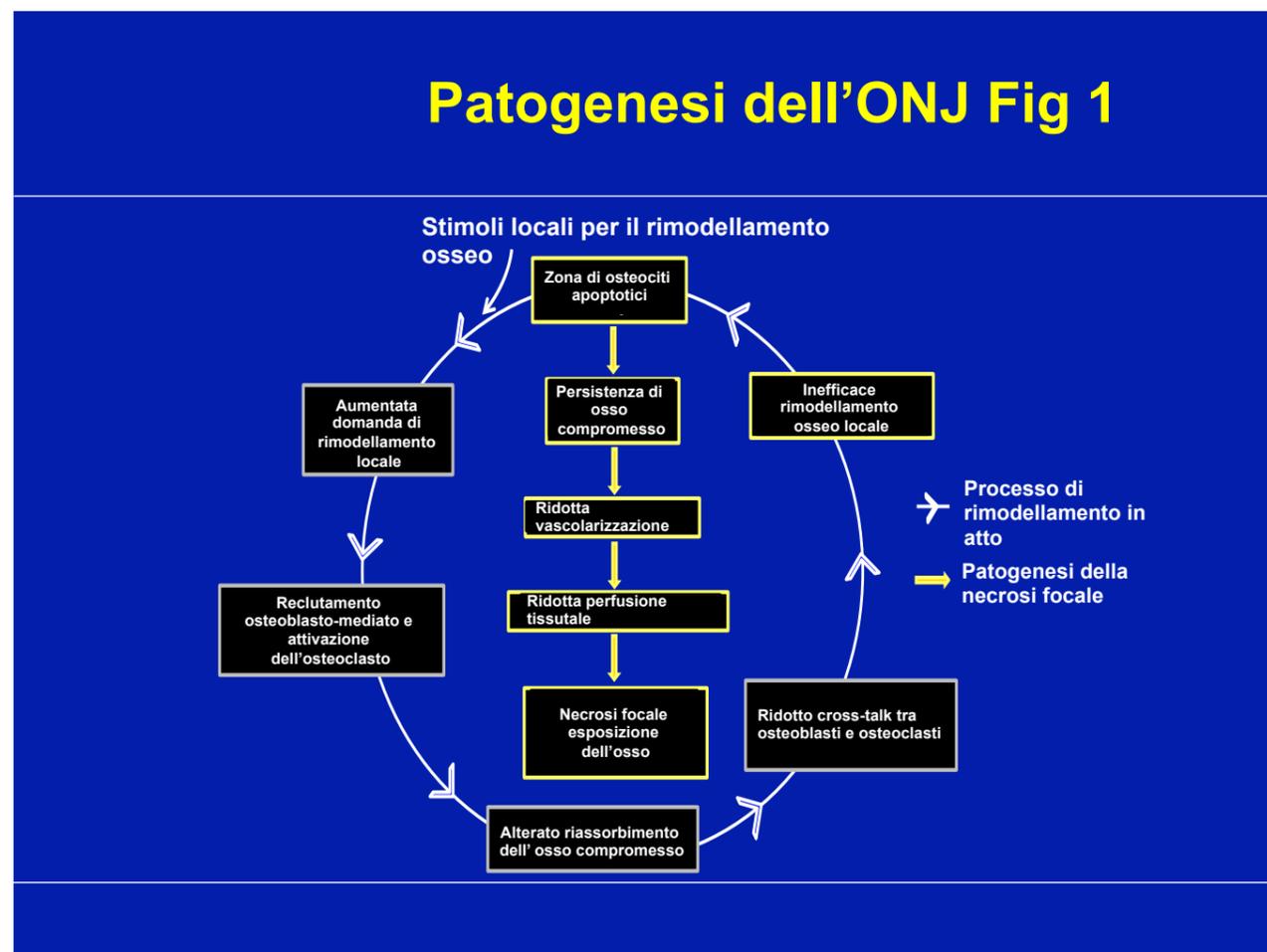


Figura 1.

I bisfosfonati agiscono sul rimodellamento osseo a vari livelli:

- **Livello tissutale:** inibizione del riassorbimento e riduzione del rimodellamento osseo, che è a sua volta accoppiato alla neoformazione ossea
- **Livello cellulare:**
 - 1 Inibizione dell'attività degli osteoclasti
 - Inibizione del reclutamento, della sopravvivenza, dell'attività sulla superficie ossea
 - 2 Inibizione dell'attività degli osteoblasti
 - Inibizione della proliferazione, adesione, migrazione e sopravvivenza
- **Livello molecolare:** modulazione dell'attività degli osteoclasti attraverso l'interazione con recettori cellulari di superficie o enzimi intracellulari

Figura 2. Effetti dei bisfosfonati sul rimodellamento osseo.

BT [3, 4-7, 9, 13, 19, 22]. Anche se con un meccanismo meno chiaro e documentato solo in studi in vitro (Figura 2), elevate concentrazioni di BPs sembrano inoltre inibire la proliferazione, adesione, migrazione e sopravvivenza degli osteoblasti (OBs) [23] a loro volta responsabili di una inibizione diretta dell'attività di riassorbimento da parte degli OCs, indipendente dal "coupling" metabolico [24]. L'inibizione del BT che è particolarmente elevata nell'osso mandibolare e mascellare, ad opera dei BPs e del DNB [7-9, 12, 14] ostacola di conseguenza il processo di guarigione, in risposta a microtraumi fisiologici e soprattutto a procedure invasive (estrazioni dentarie, chirurgia periapicale, impianti ecc...), essendo l'attività osteoclastica fondamentale per il processo riparativo [25, 26]. Il ruolo determinante dell'inibizione del BT appare confermato anche dalla segnalazione di osteomielite mandibolare in due malattie rare, geneticamente determinate, come l'osteopetrosi e la picnodisostosi, entrambe caratterizzate da ridotta attività degli OCs [27, 28].

Nel microambiente osseo orale intervengono poi l'infezione batterica (sostenuta più frequentemente da actinomiceti) favorita dall'esposizione dell'osso, l'infiammazione e la ridotta angiogenesi che contribuiscono a loro volta alla comparsa di necrosi e di osteomielite [4, 8, 12, 20, 29]. L'infiammazione gioca infatti un ruolo determinante nella patogenesi dell'ONJ ed è caratterizzata da infiltrati di cellule infiammatorie, più o meno estesi in rapporto alla severità del processo e da aumentate concentrazioni di citochine proinfiammatorie come il TNF- α e l'interleuchina 6 (IL-6).

Recentemente un ruolo importante è stato attribuito ai meccanismi autoimmuni, sia di tipo innato che adattativo, per alterata funzionalità dei macrofagi e dei monociti [30, 31] e tardiva deplezione dei T linfociti γ/δ indotte dai BPs [4, 8, 12, 22, 31, 32].

È opportuno sottolineare che il principale meccanismo d'azione che caratterizza gli N-BPs è rappresentato dall'inibizione del riassorbimento osteoclastico attraverso il blocco della farnesilpirofosfosintetasi (FPPS), enzima chiave della via del mevalonato. Il substrato naturale dell'enzima FPPS è l'isopentenilpirofosfato (IPP), un antigene endogeno riconosciuto dai T linfociti γ/δ che costituiscono un importante subset di T linfociti coinvolti nell'immunità di tipo innato. Il blocco dell'enzima FPPS da parte degli N-BPs determina un accumulo intracellulare nei monociti di IPP che stimola i T linfociti γ/δ che a loro volta liberano citochine altamente proinfiammatorie come TNF- α , INF- γ e IL-6 [33, 34]. Tali citochine, che sono responsabili della reazione di fase acuta frequentemente segnalata in corso di terapia con N-BPs, soprattutto se per via intravenosa e ad alti dosaggi, sono state infatti riscontrate ad elevate concentrazioni 1-2 giorni dopo l'infusione ed interferiscono negativamente anche con le capacità riparative del tessuto osseo [35]. Tuttavia i T linfociti γ/δ esprimono anche fattori di crescita importanti per la rigenerazione tissutale come

il fattore di crescita fibroblastico ed il fattore di crescita connettivale, entrambi fondamentali nei processi riparativi delle ferite e delle Fx ossee [36, 37]. Recenti studi [31, 32] hanno documentato in pazienti in trattamento da 18-24 mesi con BPs una deplezione di tali cellule, le cui concentrazioni percentuali sono risultate significativamente inferiori rispetto a quelle di pazienti mai trattati con BPs. Tale deplezione, più rapida e marcata con le formulazioni intravenose rispetto a quelle orali [31, 32], sembrerebbe ricondursi all'apoptosi di tali cellule indotta dalla loro prolungata attivazione ad opera degli N-BPs[38] e nei pazienti con ONJ [31]indurrebbe una alterata risposta autoimmune al processo infettivo (osteomielite) ed una ridotta riparazione del danno tissutale (necrosi ossea), entrambi aspetti ben documentati nell'ONJ [31].

Nella patogenesi dell'ONJ[7]sono stati identificati come fattori di rischio, oltre ai traumatismi e alle procedure odontoiatriche di vario tipo, fattori legati al paziente (scarsa igiene orale, periodontopatie e altre patologie del cavo orale, abuso di alcol e di caffè, neoplasie, trattamenti immunosoppressori, età avanzata) e al farmaco (N-BP sintravenosi che nei pazienti oncologici sono utilizzati a dosaggi 6-10 volte superiori a quelle che si impiegano nei pazienti con OP e comparabili in questi ultimi a quelli di decine di anni di trattamento) [4,6, 8, 12,20,22].

Effetti osteoanabolici del PTH intermittente Fig 3

- ◆ La somministrazione intermittente del PTH ha un effetto anabolico sul rimodellamento osseo
 - Stimola la proliferazione e la differenziazione degli osteoblasti
 - Aumenta la massa ossea

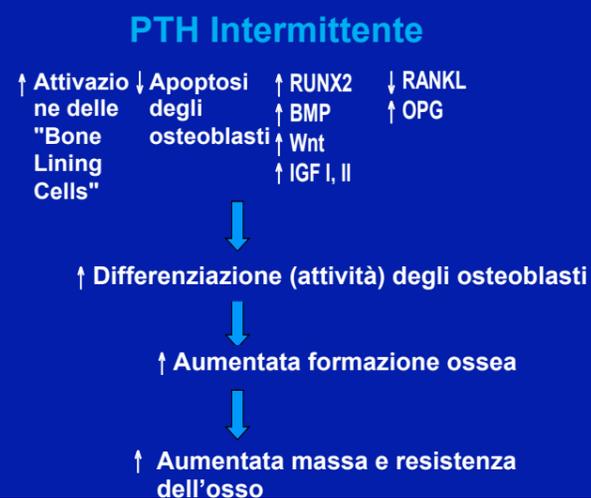


Figura 3.

PTH ED OSSO

Il PTH intermittente ha un importante effetto anabolico per una espansione del pool degli OBs e dei loro precursori, che si realizza stimolando la popolazione delle cellule staminali mesenchimali (MSC) verso la differenziazione osteogenica e condrogenica [39-41].

Di fatto i meccanismi a cui si riconducono gli effetti sugli OBs sono molteplici (Figura 3). Infatti il PTH attiva le "lining cells" quiescenti ed interviene sui segnali osteocitari[42, 43], stimola la proliferazione degli OBs inibendo nel contempo l'apoptosi di tali cellule e dei loro precursori [44]. Inoltre, attraverso il legame con il recettore PPR, il PTH favorisce il rilascio di fattori di crescita come IGF-1, TGF- β , FGF-2 [45, 46].

A livello di segnali che regolano la biologia del tessuto osseo, il PTH può essere considerato un agonista del segnale osteoformativo Wnt per il suo effetto stimolatorio su tale segnale [47], che si realizza attraverso l'attivazione della β -catenina e l'inibizione degli antagonisti di tale segnale come la sclerostina osteocitaria ed il DKK-1 [39,48,49]. L'attivazione del segnale Wnt è di tipo diretto, ma anche indiretto, per il coinvolgimento dei T linfociti del midollo osseo che, in risposta al PTH, producono la proteina Wnt10b, un legando che a sua volta attiva il segnale (40, 50).

Il teriparatide (TPTD), frammento N-terminale 1-34 del PTH, è il farmaco anabolico approvato per il trattamento dell'OP ad elevato rischio di Fx [39]; esso favorisce la formazione ossea a livello trabecolare endostale e periostale, con aumento sia della connettività trabecolare che dello spessore corticale, cui consegue un incremento della resistenza microarchitetturale dell'osso [51] (Figura 4).

Terapia osteoanabolica con teriparatide Fig 4

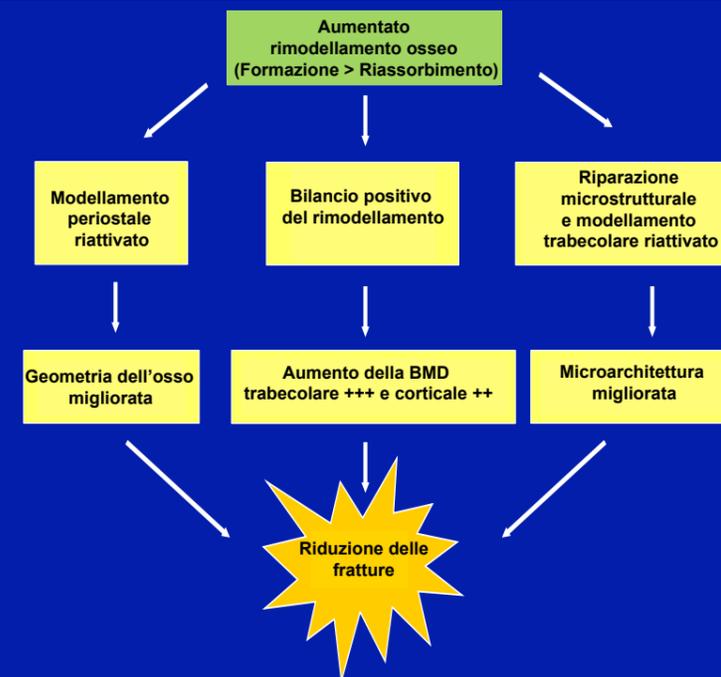


Figura 4.

Lo stimolo alla neoformazione si accompagna ad uno stimolo al riassorbimento osseo attraverso una aumentata espressione di RANKL ed una ridotta liberazione di osteoprotegerina (OPG) nel microambiente osseo [40, 46]; l'aumentata attivazione degli OCs che ne consegue favorisce l'interazione fra OCs e OBs, ma il TPTD aumenta anche l'interazione tra OBs e osteociti, cellule queste ultime che svolgono un ruolo fondamentale per iniziare il ciclo di rimodellamento nei processi riparativi ossei [52]. È ben documentato infatti come l'effetto anabolico di questo farmaco si accompagni ad un aumento dei marcatori del BT, più rapido e precoce per quelli di neoformazione, più tardivo e di minor entità per quelli di riassorbimento, creando quella che viene definita "finestra anabolica" [39].

OSTEONECROSI DEI MASCELLARI E RUOLO DEL TERIPARATIDE

Tutte le principali società scientifiche e associazioni di medici odontoiatrici e chirurghi maxillofacciali, incluse la Società Italiana dell'OP, del Metabolismo Minerale e delle Malattie dello Scheletro (SIOMMMS) e l'associazione Nazionale Dentisti Italiani (ANDI) in un documento congiunto (<http://www.giornaledellasiommms.it/index.html?cat=1&id=22>) hanno elaborato una serie di raccomandazioni per ridurre il rischio di ONJ [4, 7, 8, 12, 13] in pazienti in trattamento con BPs e/o DNB, soprattutto se pazienti oncologici, immunodepressi, con ben noti fattori di rischio e se i BPs sono intravenosi e ad alti dosaggi. In particolare si raccomandano norme generali di corretta igiene orale e periodici controlli odontoiatrici, con particolare riferimento ad un precoce riconoscimento delle lesioni iniziali e alla stadiazione del grado di severità dell'ONJ [4, 12]; a queste si aggiungono poi specifiche e dettagliate procedure chirurgiche da adottare quando si intervenga in pazienti in trattamento con BPs orali e intravenosi, come una adeguata profilassi con antimicrobici orali (clorexidina) e antibiotici sistemici, prima e dopo l'intervento [4, 8, 12, 13].

Sia nel recente documento dell'Associazione americana dei chirurghi orali e maxillofacciali [12] che in quello della Task Force Internazionale [8], si affronta anche il problema dei possibili vantaggi derivanti dall'interruzione del trattamento con BPs o DNB in pazienti che debbano sottoporsi ad una estrazione dentaria o altre procedure invasive. Una raccomandazione condivisa suggerisce di intervenire con procedure odontoiatriche invasive (estrazioni dentarie, impianti, ecc...) prima di iniziare tali trattamenti, ovviamente quando possibile [8, 12], mentre manca un parere unanime sulla necessità e sui reali vantaggi della loro interruzione quando questi siano già in corso [4, 8, 9, 12, 53]. La Task Force Internazionale, pur sottolineando il rischio di ONJ estremamente basso soprattutto nei pazienti non oncologici, il fatto che i BPs si fissano nell'osso per molti anni e che non esistono evidenze in favore, suggerisce di sospenderli almeno fino alla guarigione dei tessuti molli [8], ma rimanda comunque al giudizio clinico che, in termini di rischi/benefici, rimane sempre essenziale. Anche l'FDA nel documento del 2011 [54] e il documento dei chirurghi orali e maxillofacciali americani [12] confermano una mancanza di dati sostanziali e di evidenze sui vantaggi o gli svantaggi dell'interruzione e della durata del trattamento in termini di rischio di ONJ [12], concludendo tuttavia per un possibile e teorico beneficio della sua sospensione nei pazienti in terapia da oltre 4 anni o con particolari fattori di rischio [12].

Nella maggior parte dei pazienti l'ONJ viene trattata in modo conservativo con misure specifiche, soprattutto impostate su una terapia antibiotica locale e sistemica, con l'obiettivo di eliminare il dolore, controllare l'infezione dell'osso e delle parti molli, ridurre la comparsa e/o la progressione della necrosi ossea [8, 9, 12, 53]. Ovviamente se la terapia conservativa ha fallito o nei casi di stadi avanzati di ONJ si dovrà ricorrere all'intervento chirurgico (resezione, sequestrectomia) [55].

Una serie di case-reports e di studi, comunque sempre di piccole dimensioni, ha riportato i vantaggi dell'utilizzo di alcune strategie di trattamento non chirurgiche come la camera iperbarica, la laser terapia, le infusioni di plasma arricchito di piastrine, l'impiego delle proteine morfogenetiche ossee [12]. A questi trattamenti, la cui efficacia reale necessita di studi controllati, si sono aggiunte sempre più numerose segnalazioni sui vantaggi derivanti dall'impiego del TPTD [8, 9, 12] nei casi non responsivi alla terapia conservativa o come trattamento adiuvante nella resezione chirurgica dell'osso necrotico.

Il razionale biologico della potenziale efficacia del TPTD è ovviamente riconducibile all'effetto di stimolo sul BT, che contrasta l'effetto inibitorio da parte dei BPs e di altri antirassorbitivi.

Nell'ONJ il TPTD può "revitalizzare" l'osso con almeno tre meccanismi: 1) diretta stimolazione degli OBs indipendente dall'effetto stimolatorio derivante dall'interazione OBs-OCs nel microambiente osseo; 2) attivazione del segnale Wnt; 3) aumento del reclutamento e dell'attivazione degli OCs provenienti dal torrente circolatorio con la finalità di rimuovere l'osso necrotico [29] (Figura 5). A questi tre meccanismi sono da aggiungere i possibili effetti immunomodulatori del TPTD [40] sugli aspetti immunitari della patogenesi dell'ONJ, recentemente segnalati [8, 12, 29, 31, 32].

I primi case-reports hanno evidenziato, dopo periodi vari di utilizzo del TPTD (da 2 a 10 mesi), alle stesse dosi utilizzate nell'OP (20µg giornalieri sottocutanei), riduzione del dolore, miglioramento dell'ulcerazione orale e della necrosi ossea fino alla guarigione completa, documentata in alcuni

Ruolo dell'effetto osteoanabolico del teriparatide nella ONJ Fig 5

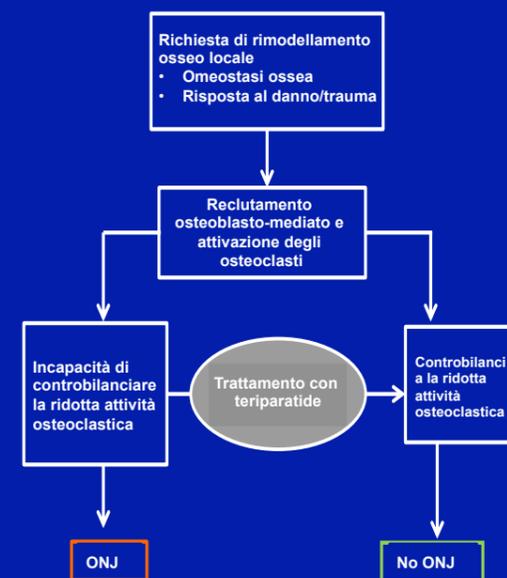


Figura 5.

casi con radiografia e/o con tomografia assiale computerizzata (TAC) [56-58]. Altri sei casi di completa risoluzione clinica sono stati segnalati successivamente [29]; in questi sei casi gli stadi di severità dell'ONJ erano compresi tra 1 e 3 [12] e la durata del trattamento con TPTD variava da 1 a 5 mesi. In alcuni case-reports sono stati anche misurati i marcatori del BT che hanno evidenziato incrementi significativi dopo 2-3 mesi di trattamento, a conferma dell'effetto stimolatorio del TPTD sul BT [59, 60]. È interessante segnalare anche un caso di risoluzione completa, documentata con TAC, di ONJ di stadio 3 con l'utilizzo del TPTD in somministrazione sottocutanea settimanale (56µg) [61].

Un recente case-report spagnolo ha invece riportato l'insuccesso della terapia con TPTD per 8 mesi in una donna di 79 anni con artrite reumatoide, in trattamento con GC, metotrexate e rituximab, che aveva precedentemente assunto ibandronato orale mensile per 32 mesi [62]. Come gli stessi autori ed altri autori [63] commentano in proposito, gli effetti immunosoppressivi della malattia, del rituximab (di cui è documentata a livello articolare una inibizione del RANKI e quindi dell'osteoclastogenesi) [64] e dei GC (che inibiscono il segnale Wnt e quindi l'osteof ormazione), potrebbero avere interferito negativamente con l'effetto osteoanabolico del TPTD [62,63].

In conclusione, dai dati attualmente disponibili il TPTD sembra rappresentare una potenziale opzione terapeutica nella gestione dell'ONJ.

Al momento mancano tuttavia evidenze, derivanti da studi controllati e condotti su ampie casistiche, sulla reale efficacia, sulla tempistica (negli stadi iniziali di diagnosi o quando le altre procedure conservative abbiano fallito?) e sulla modalità (nel trattamento conservativo o come adiuvante nel trattamento chirurgico?) del suo impiego.

BIBLIOGRAFIA:

1. Leslie W.D., O'Donnell S., Jean S. et al. Trends in hip fracture rates in Canada. *JAMA* 2009, 302(8):883-889.
2. Brauer C.A., Coca-Perrillon M., Cutler D.M., Rosen A.B. Incidence and Mortality of Hip Fractures in the United States. *JAMA* 2009, 302(14):1573-1579.
3. Pazianas M., Abrahamsen B. Safety of bisphosphonates. *Bone* 2011, 49(1):103-110.
4. Borromeo G.L., Tsao C.E., Darby I.B., Ebeling P.R. A review of the clinical implications of bisphosphonates in dentistry. *Aust Dent J* 2011, 56(1):2-9.
5. Pazianas M., Miller P., Blumentals W.A. et al. A review of the literature on osteonecrosis of the jaw in patients with osteoporosis treated with oral bisphosphonates: prevalence, risk factors, and clinical characteristics. *ClinTher* 2007, 29(8):1548-1558.
6. Rizzoli R., Reginster J.Y., Boonen S. et al. Adverse Reactions and Drug-Drug Interactions in the Management of Women with Postmenopausal Osteoporosis. *Calcif Tissue Int* 2011, 89(2):91-104.
7. Di Munno O., Delle Sedie A., Mazzantini M. Eventi avversi dei bisfosfonati. Aggiornamento in tema di Bisfosfonati 2012, 13(1): 3-30.
8. Khan A.A., Morrison A., Hanley D.A. et al. Diagnosis and Management of Osteonecrosis of the Jaw: A Systematic Review and International Consensus. *J Bone Miner Res* 2015, 30(1): 3-23.
9. Allen M.R., Ruggiero S.L. A review of pharmaceutical agents and oral bone health: how osteonecrosis of the jaw has affected the field. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2014, 29(1):e45-57.
10. Marx R.E. Pamidronate (Aredia) and zoledronate (Zometa) induced avascular necrosis of the jaws: a growing epidemic. *J Oral MaxillofacSurg* 2003, 61(9):1115-1117.
11. Lee S.-H., Chang S.S., Lee M., Chan R.C., Lee C.C. Risk of osteonecrosis in patients taking bisphosphonates for prevention of osteoporosis: a systematic review and meta-analysis. *OsteoporosInt* 2014, 25(3):1131-1139.
12. Ruggiero S.L., Dodson T.B., Fantasia J. et al. American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons position paper on medication-related osteonecrosis of the jaw--2014 update. *J Oral MaxillofacSurg* 2014, 72(10):1938-1956.
13. Khosla S., Burr D., Cauley J. et al. Bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw: report of a task force of the American Society for Bone and Mineral Research. *J Bone Miner Res* 2007, 22(10):1479-1491.
14. Uyanne J., Calhoun C.C., Le A.D. Antiresorptive drug-related osteonecrosis of the jaw. *Dent Clin North Am* 2014, 58(2):369-384.
15. United States. Food and Drug Administration. Office of Drug Safety. Postmarketing safety Review. Bisphosphonates. http://www.fda.gov/ohrms/dockets/ac/05/briefing/2005-4095B2_03_04-FDA-Tab3.pdf. Materialeconsultatoil 27/06/2015.
16. Spanou A., Lyritis G.P., Chronopoulos E., Tournis S. Management of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: a literature review. *Oral Dis.* 2015, Mar 2. [Epub, in corso di stampa].
17. Boquete-Castro A., Gómez-Moreno G., Calvo-Guirado J.L., Aguilar-Salvatierra A., Delgado-Ruiz R.A. Denosumab and osteonecrosis of the jaw. A systematic analysis of events reported in clinical trials. *Clin Oral Implants Res* 2015, Feb 2. [Epub, in corso di stampa].
18. Qi W.-X., Tang L.N., He A.N., Yao Y., Shen Z. Risk of osteonecrosis of the jaw in cancer patients receiving denosumab: a meta-analysis of seven randomized controlled trials. *Int J ClinOncol* 2014, 19(2):403-410.

19. Mavrokokki T., Cheng A., Stein B., Goss A. Nature and frequency of bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaws in Australia. *J Oral Maxillofac Surg* 2007, 65(3):415-423.
20. Compston J. Pathophysiology of atypical femoral fractures and osteonecrosis of the jaw. *Osteoporos Int* 2011, 22(12):2951-2961.
21. Subramanian G., Fritton J.C., Quek S.Y. Osteonecrosis and Atypical Fractures – Common Origins? *Osteoporos Int* 2013, 24(2):745-746.
22. Kumar V., Sinha R.K. Evolution and etiopathogenesis of bisphosphonates induced osteonecrosis of the jaw. *N Am J Med Sci* 2013, 5(4):260-265.
23. Reinholtz G.G., Getz B., Pederson L. et al. Bisphosphonates directly regulate cell proliferation, differentiation, and gene expression in human osteoblasts. *Cancer Res* 2000, 60:6001-6007.
24. Sahni M., Guenther H.L., Fleisch H. et al. Bisphosphonates act on rat bone resorption through mediation of osteoblasts. *J Clin Invest* 2003, 91:2004-2011.
25. Rody W.J. Jr, King G.J., Gu G. Osteoclast recruitment to sites of compression in orthodontic tooth movement. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2001, 120(5):477-489.
26. Schell H., Lienau J., Epari D.R. et al. Osteoclastic activity begins early and increases over the course of bone healing. *Bone* 2006, 38(4):547-554.
27. Bathi R.J., Masur V.N. Pyknodysostosis--a report of two cases with a brief review of the literature. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2000, 29(6):439-442.
28. Steiner M., Gould A.R., Means W.R. Osteomyelitis of the mandible associated with osteopetrosis. *J Oral Maxillofac Surg* 1983, 41(6):395-405.
29. Subramanian G., Cohen H.V., Quek S.Y. A model for the pathogenesis of bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw and teriparatide's potential role in its resolution. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2011, 112(6):744-753.
30. Pazianas M. Osteonecrosis of the jaw and the role of macrophages. *J Natl Cancer Inst* 2011, 103(3):232-240.
31. Kalyan S., Quabius E.S., Wiltfang J., Mönig H., Kabelitz D. Can Peripheral Blood gd T Cells Predict Osteonecrosis of the Jaw? An Immunological Perspective on the Adverse Drug Effects of Aminobisphosphonate Therapy. *J Bone Miner Res* 2013, 28(4): pp 728–735.
32. Rossini M., Adami S., Viapiana O. et al. Long-term effects of amino-bisphosphonates on circulating $\gamma\delta$ T cells. *Calcif Tissue Int* 2012, 91(6):395-399.
33. Das H., Wang L., Kamath A., Bukowski J.F. Vgamma2Vdelta2 T-cell receptor-mediated recognition of aminobisphosphonates. *Blood*. 2001, 98:1616–8.
34. Roelofs A.J., Jauhainen M., Monkkonen H., Rogers M.J., Monkkonen J., Thompson K. Peripheral blood monocytes are responsible for gamma delta T cell activation induced by zoledronic acid through accumulation of IPP/DMAPP. *Br J Haematol*. 2009, 144:245–50.
35. Kantor M., Polson A.N., Zander H.A. Alveolar bone regeneration after removal of inflammatory and traumatic factors. *J Periodontol* 1976, 47:687-695.
36. Jameson J., Ugarte K., Chen N. et al. A role for skin gamma delta T cells in wound repair. *Science* 2002, 296: 747-749.
37. Workalemahu G., Foerster M., Kroegel C., Braun RK. Human gamma delta-T lymphocytes express and synthesize connective tissue growth factor: effect of IL-15 and TGF-beta 1 and comparison with alpha, beta-T lymphocytes. *J Immunol* 2003, 170:153–157.
38. Gan Y.H., Wallace M., Malkovsky M. Fas-dependent, activation-induced cell death of gamma delta cells. *J Biol Regul Homeost Agents* 2001, 15:277–285.

39. Canalis E., Giustina A., Bilezikian J.P. Mechanisms of anabolic therapies for osteoporosis. *N Engl J Med* 2007, 357(9):905-916.
40. Pacifici R. The immune system and bone. *Arch Biochem Biophys* 2010, 503(1):41-53.
41. Kakar S., Einhorn T.A., Vora S. et al. Enhance Chondrogenesis and Wnt Signaling in PTH-Treatment Fractures. *J Bone Miner Res* 2007, 22(12):1903-1912.
42. Dobnig H., Turner R.T. Evidence that intermittent treatment with parathyroid hormone increases bone formation in adult rats by activation of bone lining cells. *Endocrinology* 1995, 136(8):3632–3638.
43. O'Brien C.A., Plotkin L.I., Galli C. et al. Control of bone mass and remodeling by PTH receptor signaling in osteocytes. *PLoS ONE* 2008, 3(8):e2942.
44. Tobimatsu T., Kaji H., Sowa H. et al. Parathyroid hormone increases beta-catenin levels through Smad3 in mouse osteoblastic cells. *Endocrinology* 2006, 147(5): 2583–2590.
45. Ellegaard M., Jørgensen N.R., Schwarz P. Parathyroid hormone and bone healing. *Calcif Tissue Int* 2010, 87(1):1-13.
46. Jilka R.L. Molecular and cellular mechanisms of the anabolic effect of intermittent PTH. *Bone* 2007, 40(6): 1434-1446.
47. Moon R.T., Bowerman B., Boutros M., Perrimon N. The promise and perils of Wnt signaling through beta-catenin. *Science* 2002, 296(5573): 1644–1646.
48. Bellido T., Ali A.A., Gubrij I. et al. Chronic elevation of parathyroid hormone in mice reduces expression of sclerostin by osteocytes: a novel mechanism for hormonal control of osteoblastogenesis. *Endocrinology* 2005, 146(11):4577-4583.
49. Kulkarni N.H. Effects of parathyroid hormone on Wnt signaling pathway in bone. *J Cell Biochem* 2005, 95(6):1178-1190.
50. Gao Y., Wu X., Terauchi M. et al. T cells potentiate PTH-induced cortical bone loss through CD40L signaling. *Cell Metab* 2008, 8(2):132-145.
51. Dempster D.W., Cosman F., Kurland E.S. et al. Effects of daily treatment with parathyroid hormone on bone microarchitecture and turnover in patients with osteoporosis: a paired biopsy study. *J Bone Miner Res* 2001, 16(10):1846-1853.
52. Nakahama K. Cellular communications in bone homeostasis and repair. *Cell Mol Life Sci* 2010, 67(23):4001-4009.
53. Hellstein J.W., Adler R.A., Edwards B. et al. Managing the care of patients receiving antiresorptive therapy for prevention and treatment of osteoporosis: executive summary of recommendations from the American Dental Association Council on Scientific Affairs. *J Am Dent Assoc* 2011, 142(11):1243-1251.
54. Background document for Meeting of Advisory Committee for Meeting of Advisory Committee for Reproductive Health Drugs and Drug Safety and Risk Management Advisory Committee. United States. Food and Drug Administration. September 9, 2011; <http://www.fda.gov/downloads/AdvisoryCommittees/CommitteesMeetingMaterials/drugs/DrugSafetyandRiskManagementAdvisoryCommittee/ucm270958.pdf>. Materiale consultato il 05/07/2015.
55. Ferlito S, Puzzo S., Palermo F., Verzi P. Treatment of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws: presentation of a protocol and an observational longitudinal study of an Italian series of cases. *Br J Oral Maxillofac Surg* 2012, 50(5):425-429.
56. Harper RP and Fung E (2007). Resolution of bisphosphonate-associated osteonecrosis of the mandible: possible application for intermittent low-dose parathyroid hormone [rhPTH(1-34)]. *J Oral Maxillofac Surg* 65:573-580.
57. Lau AN and Adachi JD (2009). Resolution of Osteonecrosis of the Jaw After Teriparatide [Recombinant Human PTH-(1-34)] Therapy. *J Rheumatol* 36:1835-7.

58. Cheung A., Seeman E. Teriparatide Therapy for Alendronate-Associated Osteonecrosis of the Jaw. *N Engl J Med* 2010, 363(25): 2473-2474.
59. Kwon Y.D., Lee D.W., Choi B.J., Lee J.W., Kim D.Y. Short-term teriparatide therapy as an adjunctive modality for bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws. *Osteoporos Int.* 2012, 23(11):2721-2725.
60. Iwamoto J., Yago K., Sato Y., Matsumoto H. Teriparatide therapy for bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw in an elderly Japanese woman with severe osteoporosis. *Clin Drug Investig* 2012, 32(8):547-553.
61. Yoshiga D., Yamashita Y., Nakamichi I. et al. Weekly teriparatide injections successfully treated advanced bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws. *OsteoporosInt* 2013, 24(8):2365-2369.
62. Narváez J., Narváez J.A., Gómez-Vaquero C., Nolla J.M. Lack of response to teriparatide therapy for bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw. *OsteoporosInt* 2013, 24(2):731-733.
63. Subramanian G., Queck S.Y.P. Comment on Narváez et al.: lack of response to teriparatide therapy for bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw. *OsteoporosInt* 2013, 24(2):735-736.
64. Boumans M.J., Thurlings R.M., Yeo L. et al. Rituximab abrogates joint destruction in rheumatoid arthritis by inhibiting osteoclastogenesis. *Ann Rheum Dis* 2012, 71(1): 108-113.

L'APPLICAZIONE DELLE NUOVE TECNOLOGIE PER LA SCOPERTA DI NUOVI FARMACI PER L'OSTEOPOROSI

Luigi Gennari¹, Daniela Merlotti^{1,2}

¹Dipartimento di Scienze Medico Chirurgiche e Neuroscienze, Università degli Studi di Siena

²Divisione di Genetica, Biologia Cellulare e Malattie dell'Invecchiamento, Istituto Scientifico San Raffaele Milano.

RIASSUNTO

L'osteoporosi è una patologia comune del rimodellamento osseo caratterizzata da una compromissione della resistenza ossea con un conseguente aumento del rischio di frattura. Attualmente tale patologia costituisce una problematica socio economica crescente in tutto il mondo. In questi ultimi due decenni abbiamo assistito a un considerevole progresso nella disponibilità di composti con attività antirassorbitiva o anabolica a livello osseo. Tuttavia le strategie terapeutiche attuali presentano ancora alcune limitazioni. Grazie ai recenti miglioramenti e scoperte nell'ambito della biologia molecolare avvenuti in questi ultimi anni, sono stati identificati nuovi possibili bersagli terapeutici per composti antirassorbitivi od anabolici ed altri nuovi farmaci promettenti sono attualmente in fase di sviluppo clinico o preclinico. Nonostante ciò, i meccanismi che regolano il rimodellamento osseo non sono ancora del tutto chiari e conosciuti, lasciando quindi spazio per la scoperta e lo sviluppo clinico di nuovi agenti terapeutici. È auspicabile che i notevoli miglioramenti nel campo della genomica funzionale e della bioinformatica, associati a nuovi approcci tecnologici come l'RNA silencing, la proteomica quantitativa e l'utilizzo delle cellule mesenchimali, possano rispondere a tali esigenze ed ampliare le nostre opzioni terapeutiche per la cura di numerose patologie del metabolismo osseo, compresa l'osteoporosi.

Dopo quasi 15 anni dal completamento del primo sequenziamento dell'intero genoma umano, abbiamo assistito ad un ulteriore avanzamento tecnologico che potrebbe rivoluzionare la medicina nei prossimi anni. Il miglioramento delle nostre conoscenze circa la variabilità della genetica umana e i progressi nelle tecniche di sequenziamento hanno reso possibile l'identificazione dei meccanismi alla base di molte patologie umane e hanno permesso un più rapido approccio per l'identificazione di nuovi meccanismi molecolari o bersagli utili per lo sviluppo di nuovi farmaci [1]. A tale riguardo il recente utilizzo delle tecniche di "next generation sequencing" associate alla tecnologia di "editing" genico con CRISP/CAS9 sta contribuendo in modo sostanziale alla scoperta di nuove vie molecolari e bersagli per lo sviluppo di nuovi composti con attività antirassorbitiva o anabolica sul tessuto osseo. Fra i possibili nuovi potenziali candidati derivati da studi di tale genere, dobbiamo menzionare le molecole del sistema wnt (in particolare wnt1 e wnt16), la plastina 3 o la secreted frizzled-related protein 4 [2].

Inoltre, attraverso un differente approccio metodologico, è stato recentemente istituito "l'International Mouse Phenotyping Consortium" al fine di permettere di chiarire gli aspetti funzionali a livello scheletrico per ogni gene codificante una proteina in modelli murini generando e fenotipizzando sistematicamente 20000 diversi ceppi "knockout" (<http://www.mouse-phenotype.org/>). La fenotipizzazione sistematica "broad-based" è eseguita da ogni centro coinvolto utilizzando procedure standardizzate e le informazioni derivanti vengono diffuse e rese note alla comunità scientifica attraverso archivi pubblici. Alcuni nuovi geni associati al fenotipo osseo sono stati proprio identificati

mediante tale approccio. Fra questi *Cyp27b1*, *Cyp4b1*, *Kiss1r*, *Tram2*, *Spsn2* e *wnt16* [2]. Sebbene non tutte queste vie genetiche con fenotipo osseo possano essere utilizzate a scopo farmacologico, è comunque plausibile che, mediante esse, alcuni nuovi targets con caratteristiche promettenti possano comunque essere identificati.

Inoltre analoghi progressi in altri campi e settori della ricerca “omica” (per esempio la proteomica, la metabolomica, la biologia dei sistemi), integrati con sofisticate tecniche di analisi bioinformatica stanno generando un enorme quantitativo di dati in grado di fornire informazioni fondamentali per la comprensione delle basi biologiche delle malattie, con importanti ripercussioni sul settore della ricerca farmacologica. Oltre alla genomica funzionale, i futuri approcci e le future tecnologie per la scoperta di nuovi farmaci per l'osteoporosi, potrebbero includere le tecniche di “*RNA silencing*”, l'utilizzo di antagonisti di microRNA, la proteomica e la metabolomica quantitativa e l'utilizzo di cellule mesenchimali (“*mesenchymal stem cells*”).

Infatti, mentre meno del 2% di tutti i geni umani codificano per proteine che sono fondamentali per le cellule ed i tessuti del nostro organismo, è ormai ben chiaro che la maggior parte del genoma è costituito da DNA non codificante che è essenziale per la regolazione e l'espressione, invece, delle regioni codificanti. A tale riguardo, i microRNA (miRs) sono piccole molecole di RNA non codificanti a singolo filamento che agiscono come regolatori critici dell'espressione genica a livello post trascrizionale, agendo anche su geni che modulano il rimodellamento osseo con implicazioni rilevanti sia a livello patogenetico che nel trattamento di patologie scheletriche come l'osteoporosi [3, 4].

Per esempio, studi in vitro ed in vivo su modelli animali hanno identificato il miR-34a come un inibitore critico dell'osteoclastogenesi, del riassorbimento osseo e della nicchia metastatica ossea [4]. D'altro canto, il miR-188 è risultato essere un regolatore chiave dello “*switch*” età-correlato tra osteogenesi ed adipogenesi a livello delle cellule mesenchimali in grado di aumentare il numero degli adipociti e ridurre quello degli osteoblasti, costituendo, quindi, un potenziale bersaglio terapeutico per la perdita ossea legata all'invecchiamento [5]. Ulteriori studi, mediante tecniche di sequenziamento di RNA messaggero (“*massive parallel sequencing of messenger-RNA, RNA seq*”) su campioni ossei derivanti da colture cellulari ossee, animali transgenici o knock-out e popolazioni di pazienti, saranno certamente in grado di fornire ulteriori, nuove e più dettagliate informazioni sui meccanismi di segnale sia genico che molecolare fondamentali per la regolazione del rimodellamento osseo, che potrebbero costituire degli importanti bersagli farmacologici. È inoltre auspicabile che nuovi approcci metodologici possano in futuro essere utilizzati per modulare geni o vie di segnale anche in vivo. La tecnica RNA “*interference*” (RNAi) si basa su di un silenziamento genico post trascrizionale sequenza specifico ed è stata sviluppata sia per l'utilizzo scientifico sia per quello terapeutico. Tramite tale approccio viene eseguita una distruzione mirata di trascritti selettivi di RNA messaggero mediante “*small interfering RNAs*” (siRNA). I fattori di trascrizione intracellulari a valle di RANK ed essenziali per l'osteoclastogenesi, come il fattore nucleare delle cellule T attivate od il complesso della chinasi I κ B, potrebbero, per esempio, costituire potenziali bersagli per inibire l'osteoclastogenesi e l'osteolisi utilizzando gli siRNA [6, 7]. Tuttavia, mentre la tecnica di “*RNA interference*” rappresenta, attualmente, uno strumento molto importante per chiarire la funzione di alcuni geni, il problema principale dello sviluppo di terapie tramite siRNA è quello di rilasciarle in maniera specifica all'interno delle cellule o dei tessuti bersaglio. Questo rappresenta un'ulteriore complicazione per il tessuto osseo a causa della sua intrinseca scarsa diffusibilità farmacologica e della sua vascolarizzazione. Possibili strategie per bypassare tale aspetto potrebbero essere quelle di coniugare il siRNA con ligandi tessuto specifici (per esempio tetracicline e bisfosfonati) o con anticorpi, oppure utilizzare micro particelle o peptidi in grado di penetrare all'interno delle cellule legati alle molecole di siRNA [7]. Inoltre, il knock-down selettivo di geni bersaglio a livello scheletrico o possibilmente a livello di

una specifica cellula ossea, potrebbe prevenire ed evitare il silenziamento indesiderato dello stesso gene a livello di altri tessuti o sistemi cellulari, riducendo così il rischio di effetti collaterali.

Parallelamente, i recenti sviluppi nel campo della proteomica potrebbero rappresentare una grande opportunità per scoprire e validare nuovi bersagli nel campo della biologia dell'osso. In particolare, la proteomica quantitativa con spettrometria di massa marcata con isotopi, potrebbe rendere possibile la comparazione diretta di intere reti di segnale sia in ambito di osteoblastogenesi che di osteoclastogenesi, processi entrambi regolati da specifici ormoni, fattori di crescita e citochine, e permettere quindi l'individuazione di differenze critiche di ogni fattore nella regolazione dei differenti meccanismi di segnale intracellulari [8, 9]. Di fatto, la proteomica semiquantitativa è già stata utilizzata per l'analisi delle membrane cellulari e delle proteine secrete dagli osteoclasti. Le molecole finora identificate mediante tali metodiche, comprendono non solo i marcatori osteoclastici già noti come la ATPasi vacuolare (una pompa protonica espressa a livello del “*ruffled border*” osteoclastico ed essenziale per l'acidificazione della lacuna di riassorbimento) e la Catepsina K (una proteasi lisosomiale secreta dagli osteoclasti e responsabile della degradazione della matrice organica), ma anche altre proteine con azione finora non riconosciuta a livello osseo (per esempio gelsolina e arp2/3) [9].

Al contrario, la metabolomica prevede la valutazione complessiva di piccoli metaboliti in un fluido biologico [10]. Essendo prodotti finali, i metaboliti sono composti più stabili sia dell'RNA messaggero che delle proteine. Integrando i profili di espressione con i comportamenti sia cellulari che tissutali, i profili metabolici possono fornire informazioni circa lo stato funzionale di un sistema biologico.

Permettendo di mettere in evidenza profili metabolici specifici per singola malattia e percorsi metabolici associati con la risposta terapeutica, la metabolomica potrebbe, pertanto, contribuire a migliorare la nostra conoscenza nell'ambito della patogenesi e del trattamento delle malattie metaboliche dello scheletro.

Infine, studi clinici attualmente in corso sulle cellule mesenchimali staminali (MSCs) dovrebbero offrire la possibilità di ampliare le nostre strategie terapeutiche nella cura di molte malattie, fra le quali quelle ossee. Le MSCs sono cellule pluripotenti con la capacità di auto rinnovarsi e di differenziarsi in differenti cellule mesodermiche come adipociti, osteoblasti e condrociti. Esse sono in grado di migrare e di integrarsi a livello del tessuto muscolo scheletrico andando poi incontro a successivo differenziamento sito specifico. Negli ultimi anni, studi preclinici su MSCs hanno dimostrato che tali cellule potrebbero costituire un potenziale alquanto promettente con applicazione clinica nell'ambito delle patologie ossee, compresa l'osteoporosi [11]. Infatti, una riduzione età-correlata nel numero e nella funzione degli osteoblasti e delle MSCs nel midollo osseo ed all'interno del periostio, è stata associata con una ridotta osteogenesi e con l'osteoporosi, mentre il trapianto autologo od allogenico di MSCs è in grado di migliorare la qualità dell'osso osteoporotico in modelli murini.

Un ulteriore approccio include l'identificazione di molecole capaci di legarsi in modo specifico alle MSCs a livello del midollo osseo stimolando quindi la loro differenziazione in osteoblasti, come per esempio, la $\alpha(5)\beta(1)$ integrina [12]. Infine, altri studi sperimentali sembrano indicare che le MSCs possano rappresentare un efficace ed attraente veicolo cellulare per il rilascio in vivo di terapie specifiche a livello dell'osso, come le “*bone morphogenetic proteins*” (BMPs) o l'antagonista solubile di RANKL [11].

BIBLIOGRAFIA

- Gennari L, Rotatori S, Bianciardi S, Gonnelli S, Nuti R, Merlotti D. Appropriate models for novel osteoporosis drug discovery and future perspectives. *Expert Opin Drug Discov.* 2015;10(11):1201-16
- Brommage R. Genetic approaches to identifying novel osteoporosis drug targets. *J Cell Biochem* 2015;116(10):2139-45
- van Wijnen AJ, van de Peppel J, van Leeuwen JP, Lian JB, Stein GS, Westendorf JJ, Oursler MJ, Im HJ, Taipaleenmäki H, Hesse E, Riester S, Kakar S. MicroRNA functions in osteogenesis and dysfunctions in osteoporosis. *Curr Osteoporos Rep* 2013;11:72-82
- Krzeszinski JY, Wei W, Huynh H, Jin Z, Wang X, Chang TC, Xie XJ, He L, Mangala LS, Lopez-Berestein G, Sood AK, Mendell JT, Wan Y. miR-34a blocks osteoporosis and bone metastasis by inhibiting osteoclastogenesis and Tgif2. *Nature* 2014;512:431-5
- Li CJ, Cheng P, Liang MK, Chen YS, Lu Q, Wang JY, Xia ZY, Zhou HD, Cao X, Xie H, Liao EY, Luo XH. MicroRNA-188 regulates age-related switch between osteoblast and adipocyte differentiation. *J Clin Invest* 2015;125:1509-22
- Wang Y, Grainger DW. RNA therapeutics targeting osteoclast mediated excessive bone resorption. *Adv Drug Deliv Rev* 2012;64:1341-57
- Wang Y, Grainger DW. Developing siRNA therapies to address osteoporosis. *Ther Deliv* 2013;4:1239-46
- Kratchmarova I, Blagoev B, Haack-Sorensen M, Kassem M, Mann M. Mechanism of divergent growth factor effects in mesenchymal stem cell differentiation. *Science* 2005;308:1472-7
- Zhang H, Recker R, Lee WN, Xiao GG. Proteomics in bone research. *Expert Rev Proteomics* 2010;7:103-11
- Evans AM, DeHaven CD, Barrett T, Mitchell M, Milgram E. Integrated, nontargeted ultrahigh performance liquid chromatography/ electrospray ionization tandem mass spectrometry platform for the identification and relative quantification of the small-molecule complement of biological systems. *Anal Chem* 2009;81:6656-67
- Liu Y, Wu J, Zhu Y, Han J. Therapeutic application of mesenchymal stem cells in bone and joint diseases. *Clin Exp Med* 2014;14:13-24
- Marie PJ. Targeting integrins to promote bone formation and repair. *Nat Rev Endocrinol* 2013;9:288-95

I NUOVI FARMACI

Andrea Giusti¹, Alfredo Nardi², Lorenzo Ventura³

¹ Bone Clinic, Dipartimento Cure Geriatriche, Ortogeriatría e Riabilitazione, Osp. Galliera, Genova

² già responsabile U.O.S. dipartimentale Patologia Osteoarticolare ASL 18 Rovigo

³ già responsabile U.O.S. dipartimentale Malattie Metaboliche dello Scheletro - Reumatologia, Az. Ospedaliera Carlo Poma, Mantova

INTRODUZIONE

Nella prevenzione delle fratture da fragilità, gli anti-riassorbitivi (*bisfosfonati e denosumab*), che riducono il riassorbimento osseo, e, secondariamente, anche la neo-formazione, rappresentano i trattamenti di prima scelta nel management del paziente osteoporotico ad aumentato rischio di frattura. I farmaci osteo-anabolici (*teriparatide e paratormone 1-84*), che incrementano potentemente la neo-formazione ossea e provocano sul lungo termine anche un incremento del riassorbimento, trovano largo impiego nell'osteoporosi severa ed in tutte quelle condizioni in cui il paziente, dopo un periodo di trattamento con anti-riassorbitivo, non evidenzia un'adeguata risposta clinica (es., *nuova frattura da fragilità*).

Sebbene sia gli anti-riassorbitivi che gli osteo-anabolici siano trattamenti con solidissime evidenze di efficacia nel ridurre l'incidenza di fratture, dotati di un elevato profilo di tollerabilità e sicurezza, essi presentano tuttavia alcuni limiti. Allo scopo di superare alcuni dei limiti delle terapie attualmente disponibili per la prevenzione delle fratture, nell'ultimo decennio la ricerca pre-clinica e clinica ha impiegato molte energie e risorse per individuare nuovi target cellulari ed extra-cellulari per nuove molecole da sviluppare. Al di là dei limiti specifici dei singoli farmaci, l'aspetto che ha maggiormente sostenuto i ricercatori, è stata la ricerca di agenti farmacologici che fossero in grado di determinare un "disaccoppiamento" del riassorbimento osseo dalla neo-formazione ossea. In altre parole, il "Sacro Graal" sarebbe rappresentato da una molecola in grado di produrre una significativa riduzione del riassorbimento osseo e contemporaneamente determinare un potente e significativo incremento della neo-formazione ossea.

In questo contesto, lo studio di alcune malattie ossee estremamente rare (*picnodisostosi, Sclerosteosi e malattia di van Buchem*), delle mutazioni che ne producono il quadro clinico, ha permesso di individuare nella sclerostina e nella catepsina K due potenziali target, che hanno determinato lo sviluppo di due nuove classi di farmaci estremamente promettenti.

L'individuazione del segnale WNT, fondamentale per lo sviluppo e la regolazione della massa ossea, dei suoi inibitori (*in particolare della sclerostina*), e la caratterizzazione di due malattie osteo-addensanti (*von Buchem e Sclerosteosi*) contrassegnate dalla carenza di sclerostina, hanno portato la ricerca a sviluppare una nuova categoria di molecole ad azione anabolica che, modulando (*riducendo*) l'azione della sclerostina, potrebbero diventare terapie promettenti nel trattamento della osteoporosi e nella prevenzione delle fratture.

La caratterizzazione della picnodisostosi, malattia rara contraddistinta da elevata massa e ridotta resistenza ossea, e la definizione della funzione della Catepsina K (CatK), proteasi lisosomiale degli osteoclasti, coinvolta nella degradazione del collagene tipo I il cui gene è inattivato nella picnodisostosi, hanno determinato lo sviluppo degli inibitori della CatK, una nuova classe di molecole potenzialmente impiegabile nel trattamento dell'osteoporosi e nella prevenzione delle fratture.

Sebbene nell'ultimo decennio, siano stati identificati anche altri potenziali target terapeutici (*chinasi c-src, dickkopf-1, calcium-sensing receptor*), nella presente review, verranno revisionati solo i dati relativi agli inibitori della Sclerostina e della CatK, in quanto lo sviluppo di tali molecole è in fase particolarmente avanzata (*in corso studi di fase III*), e pertanto, a breve, questi farmaci potrebbero essere disponibili nella pratica clinica.

INIBITORI DELLA SCLEROSTINA

- 1) Razionale
- 2) Studi pre-clinici
- 3) Studi sull'uomo e Sicurezza
- 4) Conclusioni e Domande Aperte

1) Razionale

In assenza di sclerostina, le proteine Wnt si legano alle proteine 5 e 6 correlate con il recettore dell'LDL (*LRP5* e *LRP6*), permettendo la loro fosforilazione ed il legame con la proteina assina che provoca l'inibizione della attività della GSK-3 β (*glicogeno-sintetasi-Kinasi*). Ciò comporta un incremento dei livelli citoplasmatici di β -catenina che, translocata nel nucleo dove si lega alle "binding proteins" del DNA, permette l'attivazione dei geni target che inducono la differenziazione degli osteoblasti, producendo un aumento della loro proliferazione e sopravvivenza, ed un incremento della massa ossea (Figura 1). La sclerostina, prodotta dagli osteociti, intrappolata nella matrice ossea, viene codificata dal gene *SOST*, la cui mutazione e/o inibizione determina un incremento patologico della massa ossea configurando quadri clinici quali la Sclerosteosi o la malattia di van Buchem. Tali malattie, autosomiche recessive, sono caratterizzate da mutazioni/delezioni del gene *SOST*, che codifica la sclerostina, e quindi da bassi/ assenti livelli di sclerostina circolante, da significativo aumento della densità minerale ossea (*DMO*), da alti livelli dei marcatori di neoformazione ossea, da una microarchitettura ossea normale e da una aneddotica riduzione del rischio di frattura. La sclerostina è negativamente regolata dal carico meccanico e dalla secrezione intermittente di PTH. La produzione di sclerostina, d'altro canto, provoca la diminuzione della differenziazione e della sopravvivenza degli osteoblasti, e di conseguenza regola

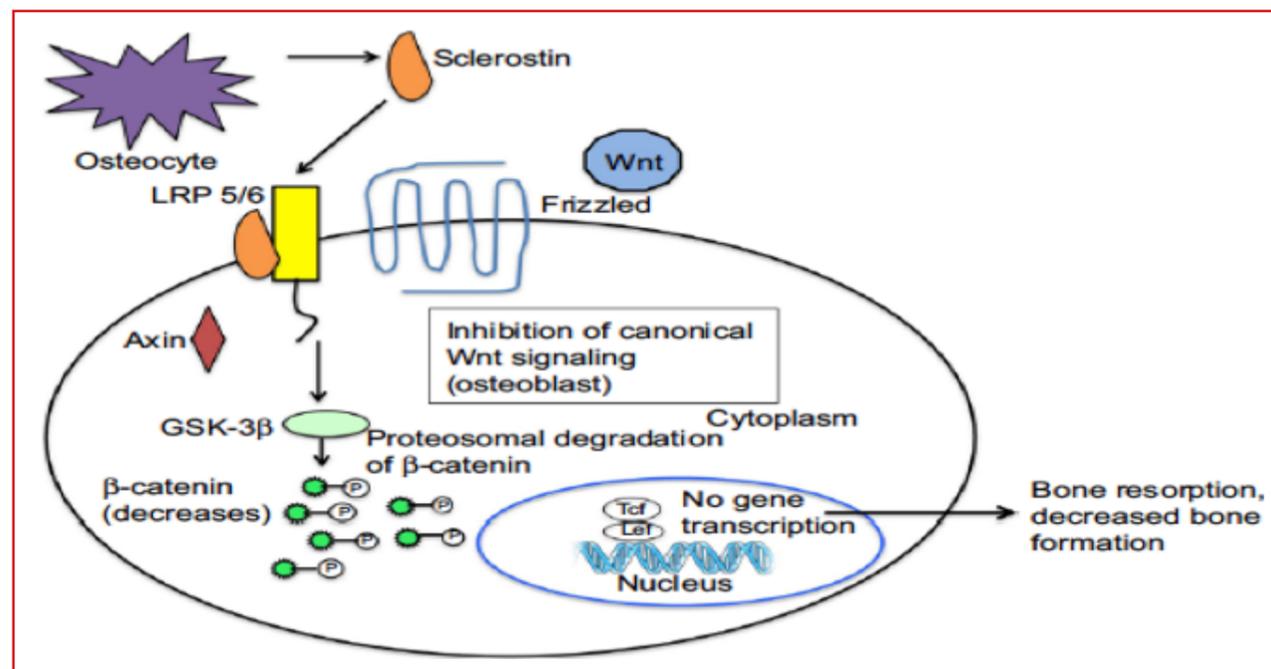


Figura 1. WNT e meccanismo d'azione della Sclerostina (Shah AD et al. Int J Women's Health 2015).

negativamente la neoformazione ossea. La sua azione d'inibizione sul segnale Wnt si esplica legandosi alle proteine 5 e 6 correlate con il recettore dell'LDL (*LRP5*, *LRP6*).

Stabilita l'azione inibente della sclerostina sulla neoformazione ossea, è apparso logico e razionale considerare l'uso di anticorpi anti-sclerostina (*Romsozumab*, *Blosozumab*) per indurre un incremento della neoformazione e della massa ossea (Figura 2).

2) Studi pre-clinici su modelli animali

È stato dimostrato che topi transgenici per *LRP5* posseggono un fenotipo ad alta massa ossea, che topolini maschi e femmine *SOST-Ko* hanno un incremento significativo della formazione e della massa ossea, sia a livello trabecolare che femorale, dei markers di neoformazione ossea e della resistenza ossea valutata con Micro-CT e con analisi istomorfometriche (*aumento considerevole della superficie osteoblastica, nessuna modificazione a carico di quella osteoclastica, incremento della "bone formation rate" a carico dell'osso trabecolare, periostale ed endocorticale*). Al contrario topi transgenici che over-esprimono *SOST* evidenziano bassa massa ossea, ridotta resistenza ossea ed attività osteoblastica, diminuita neoformazione ossea in risposta al carico.

Questi rilievi hanno indotto la ricerca a studiare l'effetto inibitorio di anticorpi anti-sclerostina in modelli animali divenuti osteoporotici in seguito a deficienza estrogenica (*ovariectomizzati*). Una sintesi degli studi pre-clinici condotti e volti ad analizzare l'effetto del trattamento con anticorpi anti-sclerostina può essere così riassunta:

- aumenta la neoformazione, la massa e la resistenza ossea,
- aumenta lo spessore delle trabecole a livello del femore,
- aumenta il volume osseo trabecolare e la formazione ossea a livello delle vertebre lombari,
- aumenta la resistenza al carico meccanico,

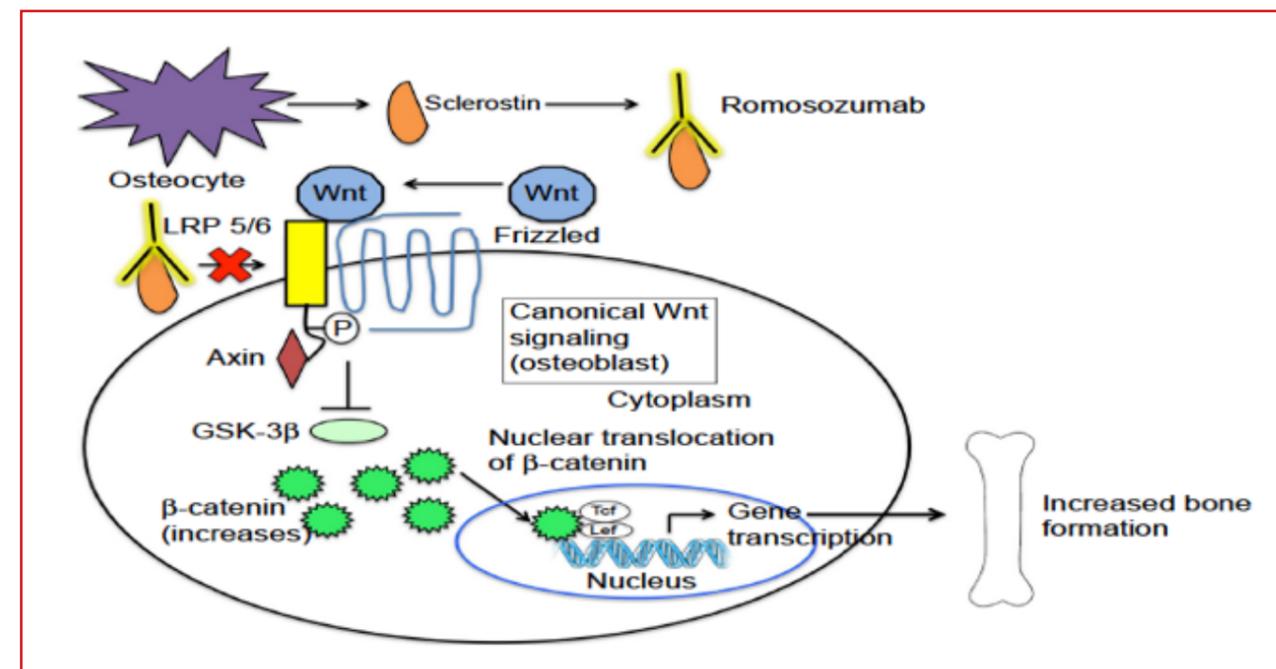


Figura 2. Meccanismo d'azione dell'anticorpo anti-sclerostina Rosozumab (Shah AD et al. Int J Women's Health 2015).

- aumenta i markers di neoformazione ossea e diminuisce quelli di riassorbimento che tendono a rimanere invariati nel tempo,
- non provoca alterazioni della mineralizzazione del tessuto osseo,
- l'azione degli anticorpi anti-sclerostina risulta reversibile dopo sospensione del trattamento,
- possiede un effetto positivo sul "fracture-healing" in presenza di integrità corticale.

Inoltre è stato evidenziato che il pre-trattamento con Alendronato (ALN) non modifica gli effetti ottenibili trattando successivamente i topi con anticorpi anti-sclerostina mentre il co-trattamento con ALN è privo di beneficio in senso anabolico.

Sono stati infine effettuati studi su topi maschi anziani e su primati (*scimmie cynomolgus*) che hanno confermato gli stessi risultati.

In conclusione, volendo "valorizzare" i principali risultati ottenuti negli studi pre-clinici condotti con anti-corpi anti-sclerostina, tre aspetti meritano di essere enfatizzati:

- 1) la neoformazione ossea indotta dagli anticorpi anti-sclerostina non si associa a un aumento del riassorbimento, pertanto genera un effettivo disaccoppiamento tra i processi di neoformazione e quelli di riassorbimento dell'osso;
- 2) i fenomeni di neoformazione ossea interessano prevalentemente superfici ossee quiescenti (Figura 3A);
- 3) sulla superficie ossea pre-riassorbitiva la neoformazione ossea è quantitativamente superiore alla quota di tessuto minerale scheletrico riassorbita, determinando così un bilancio osseo netto positivo (Figura 3B).

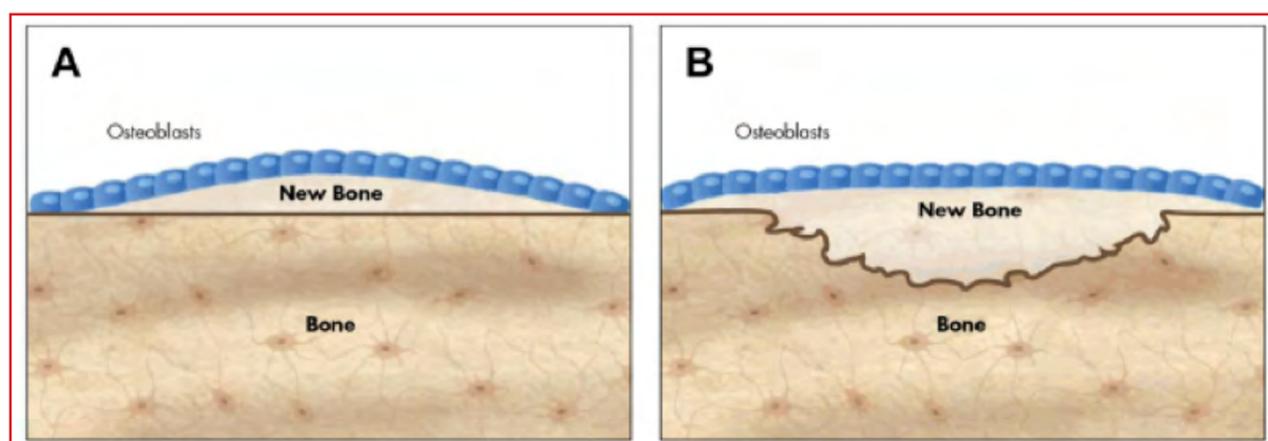


Figura 3. Neoformazione ossea su superficie quiescente (A) e su superficie sottoposta a riassorbimento (Ke HD et al. Endocrine Reviews 2012).

3) Studi sull'uomo

Gli studi clinici di fase I, II e/o III sono stati condotti o sono in corso con due farmaci biologici (anticorpi monoclonali umanizzati contro sclerostina): il Romosozumab (RMAb) e il Blosozumab (BLMb). Il RMAb è in fase avanzata di sviluppo con studi in fase I, II, e III in corso. Il BLMb ha al momento all'attivo studi in fase I e II.

Romosozumab - Fase I

Caratteristiche dello studio: singola dose, ascendente, in doppio cieco, controllato verso placebo (RMAb o placebo in rapporto 3:1). Arruolati 72 soggetti (uomini e donne in post-menopausa, sani, seguiti per 85 gg).

Risultati:

- farmacocinetica non lineare con la dose,
- aumenti dose dipendenti dei marcatori di osteo-formazione (P1NP, BSAP, OCN),
- diminuzione dose dipendenti dei marcatori di riassorbimento (sCTX),
- incremento della DMO dose dipendente al gg. 85: 5,3% colonna, 2,8% trocantere al dosaggio di 10 mg/kg s.c.

Sicurezza: generalmente ben tollerato, costipazione, tosse, cefalea, "hot flashes" moderati, non alterazioni all'ECG.

Romosozumab - Fase II

Caratteristiche dello studio: multicentrico, randomizzato, placebo-controllato, con gruppo parallelo; 8 gruppi di studio, con valutazione della efficacia e sicurezza. Arruolate 419 donne di età compresa fra i 55 e gli 85 anni con T-score compreso fra -2 e -3,5 alla colonna, femore totale, collo femorale (Figura 4).

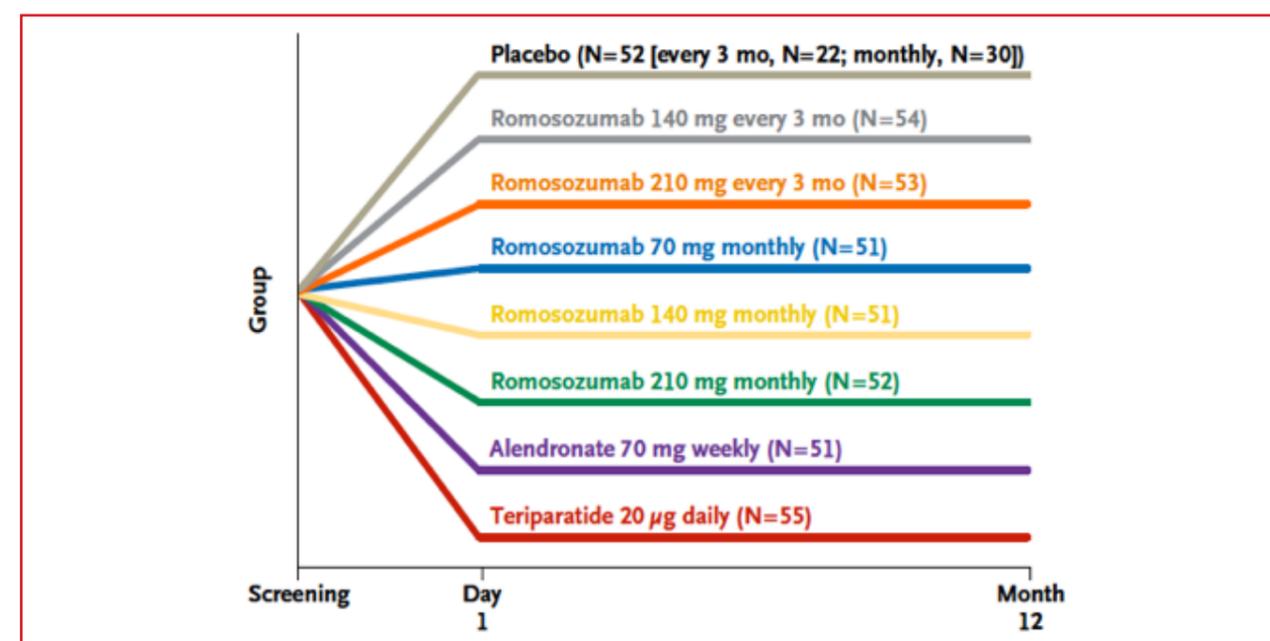


Figura 4. Disegno dello studio di fase II con Rosuzumab a dosi crescenti verso placebo, alendronato e teriparatide (McClung MR et al. N Engl J Med 2014).

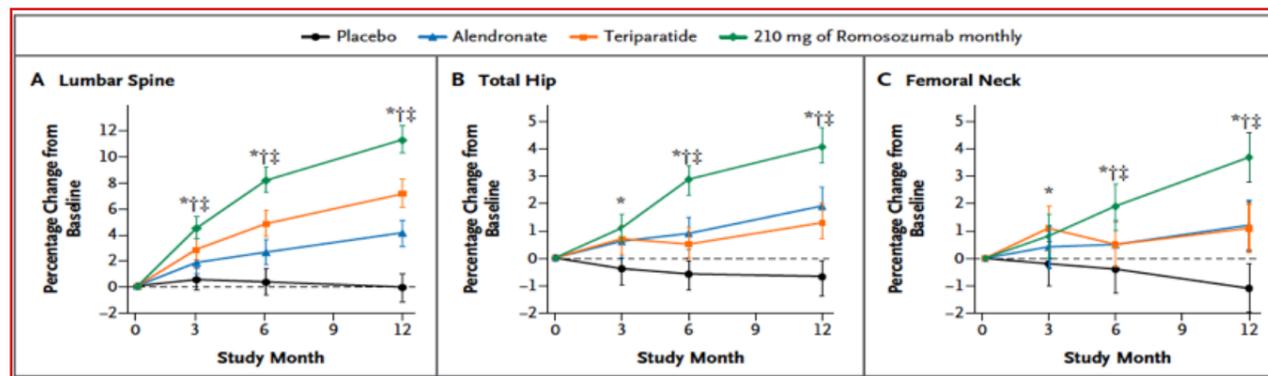


Figura 5. Effetto di Rosozumab sulla DMO lombare (A), del femore totale (B) e del collo femorale (C), confrontato con Placebo, ALN e TPT (McClung MR et al. N Engl J Med 2014).

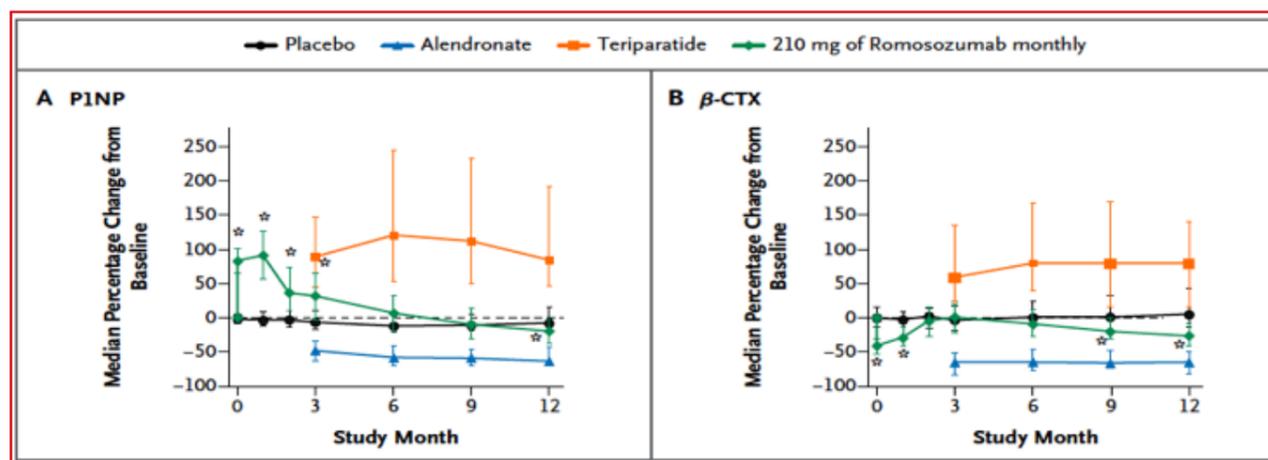


Figura 6. Effetto di Rosozumab sul marcatore di neoformazione P1NP e sul marcatore di riassorbimento beta-CTX, confrontato con Placebo, ALN e TPT (McClung MR et al. N Engl J Med 2014).

End points:

- primario: variazione della BMD alla colonna rispetto al basale a 12 mesi,
- secondario: variazione della BMD rispetto al basale al femore totale, al collo femorale al III° distale del radio a 12 mesi,
- esplorativo: effetto del RMAb verso ALN o Teriparatide (TPT) in base alla variazione percentuale della BMD.

Risultati:

- rispetto al placebo, che mostrava un decremento medio di -0,1%, ciascuno dei cinque regimi posologici di RMAb ha evidenziato un aumento statisticamente significativo ($P < 0,001$) della DMO lombare rispettivamente del 5,4% e 5,5% alle dosi somministrate ogni 3 mesi, e del 5,4%, 9,1% e 11,3% alle dosi crescenti somministrate mensilmente (Figura 5A),
- gli incrementi della DMO della colonna lombare si sono confermati anche a livello del femore totale e del collo del femore (Figura 5B e 5C),
- il RMAb, relativamente alla DMO, si è dimostrato significativamente superiore al ALN, alle dosi mensili di 140 mg e 210 mg, e al TPT a qualunque regime posologico (Figura 5),

- per quanto riguarda le variazioni dei marcatori di turnover osseo si è riscontrato un aumento transitorio dei marcatori di formazione ossea (P1NP, BSAP) e una diminuzione persistente dei marcatori di riassorbimento osseo (CTX) a confermare un bilancio positivo nel turn-over osseo che giustifica gli aumenti rapidi e persistenti della DMO (Figura 6).

Sicurezza: nessuna differenza è emersa, per quanto riguarda gli effetti avversi, fra il gruppo placebo e i gruppi RMAb senza apparente relazione con il dosaggio; nei gruppi RMAb si è registrata lo sviluppo di anticorpi che non hanno avuto effetti sull'incidenza di eventi avversi, farmacocinetica e farmacodinamica. Note: in base ai risultati promettenti dello studio in fase II sono in corso studi che valutano la sicurezza del RMAb in pazienti con insufficienza renale cronica e la sua efficacia nel "fracture healing".

Romosozumab - Fase III

Sono in corso 5 studi in fase III, di cui uno terminato e quattro in corso. Tre studi stanno investigando l'uso del RMAb in donne in menopausa osteoporotiche. Lo studio registrativo (FRAME), a più alta numerosità di campione, ha come endpoint primario l'incidenza delle fratture vertebrali a 12 e 24 mesi, il secondo l'incidenza delle fratture cliniche e di nuove fratture vertebrali a 24 mesi e la sicurezza; il terzo (STRUCTURE) è uno studio di confronto con il TPT che ha come endpoint primario le variazioni della DMO al femore totale a 12 mesi verso il basale. Infine è in corso uno studio a doppio cieco verso placebo su maschi osteoporotici che ha come endpoint primario la variazione della DMO verso il basale. Infine va segnalato che il recente studio di Graeff et al., condotto con QCT ed elementi finiti di analisi, ha evidenziato che dopo 3 mesi di somministrazione di RMAb si è verificato un significativo incremento della massa ossea a livello trabecolare e corticale che persiste a distanza di 3 mesi.

Sono da pochissimo disponibili i dati conclusivi (preliminari) dello studio FRAME (FRActure study in postmenopausal woMEN with ostEoporosis) che ha dimostrato l'efficacia sulla riduzione del rischio relativo di nuove fratture vertebrali (endpoint primario) a 12 mesi (-73%) rispetto al gruppo di controllo e a 24 mesi con RMAb seguito da Denosumab (-75%), e del rischio relativo di frattura clinica (-36%) (endpoint secondario). I dati di safety sono apparsi rassicuranti ed in linea con quelli comparsi nel gruppo placebo; va segnalata la comparsa di due necrosi mandibolari (durante trattamento, fine trattamento) e di una frattura atipica del femore (a 3 mesi di trattamento).

Blosozumab - Fase I

Caratteristiche dello studio: randomizzato, controllato contro placebo, in cieco, nel quale le donne hanno ricevuto dosi crescenti di BMAb con dosaggio singolo e.v fino a 750 mg, dosaggio singolo s.c. di 150 mg, dosaggi multipli e.v fino a 750 mg ogni 2 settimane (Q2W) per 8 settimane, dosaggi multipli s.c fino a 270 mg Q2W per 8 settimane, oppure placebo.

Risultati:

- risposta dose dipendente di sclerostina, P1NP, BSAP, OCN, sCTX e DMO sia con singole che con multiple dosi di BMAb,
- aumenti della DMO lombare fino al 3,4% a singola dose e fino al 7,7% con dosi multiple (180 e 270 mg Q2W) verso il basale,

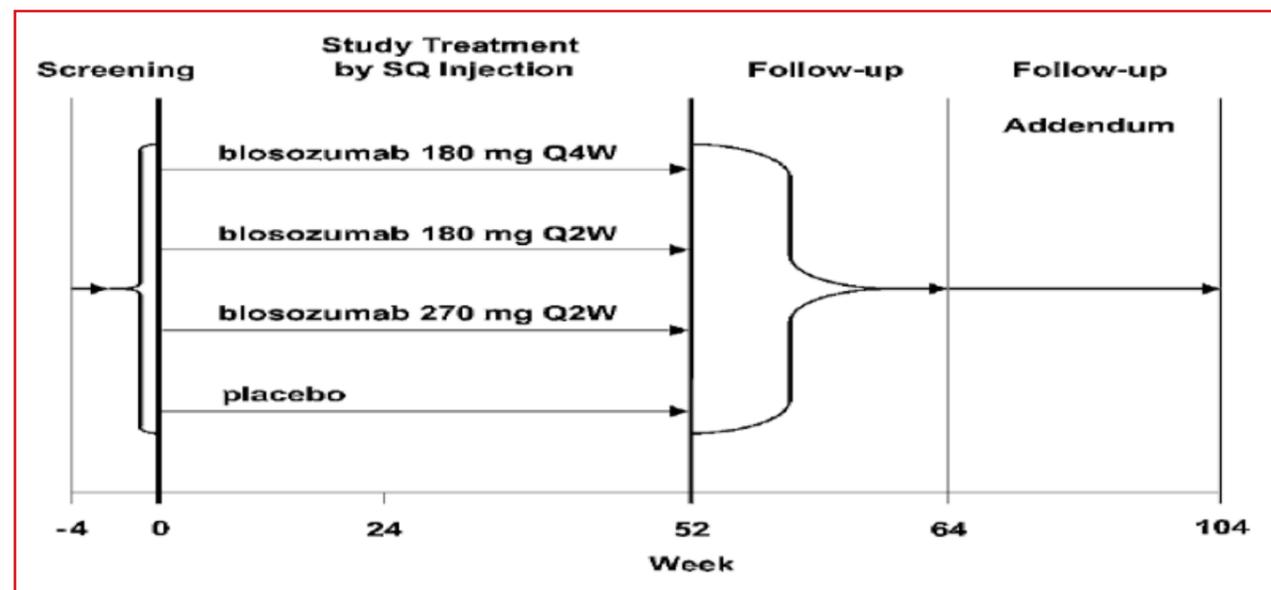


Figura 7. Disegno dello studio con Blosozumab verso placebo (Recknor CP et al. J Bone Miner Res 2015).

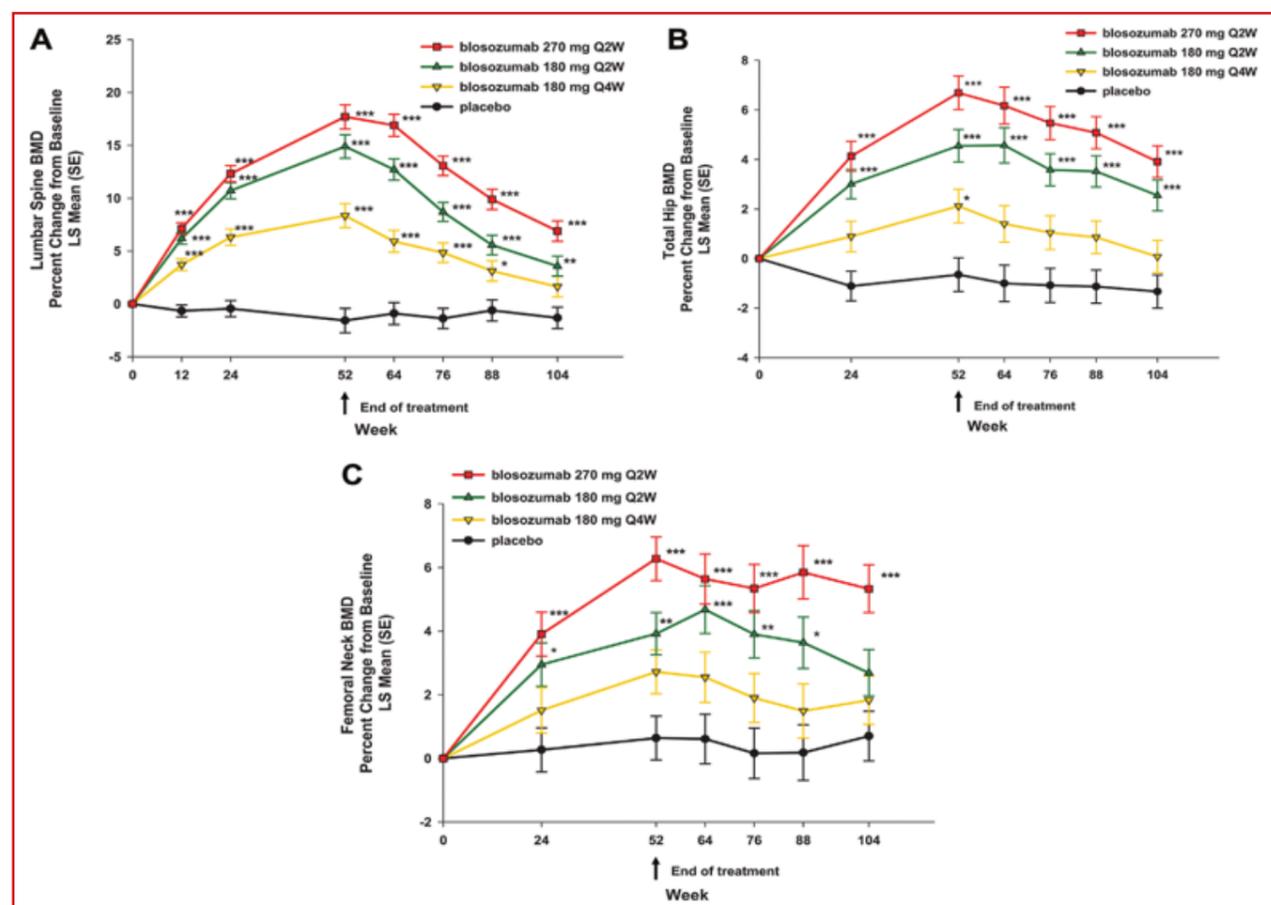


Figura 8. Effetto di Blosozumab sulla DMO lombare (A) del femore totale (B) e del collo del femore (C) confrontato con placebo (Recknor CP et al. J Bone Miner Res 2015).

- l'impiego precedente di bisfosfonati non ha determinato effetti differenti sulle singole dosi di BLaB sui biomarcatori ossei e sulla densità minerale ossea.

Sicurezza: ben tollerato, anche per BLaB si è verificato lo sviluppo di anticorpi che non hanno avuto effetti su eventi avversi, farmacocinetica e farmacodinamica.

Blosozumab - Fase II

Caratteristiche dello studio: studio multicentrico randomizzato, controllato, in doppio cieco verso placebo della durata di un anno, che ha arruolato 120 donne in postmenopausa con bassa DMO. L'end point primario dello studio era la variazione della DMO lombare verso il basale (Figura 7).

Risultati:

- la DMO lombare è aumentata del 17,7% e la DMO del femore totale del 6,2% alle dosi più alte impiegate (Figura 8),
- i marcatori di osteoformazione aumentavano inizialmente, mostrando un successivo trend verso i livelli basali di pre-trattamento,
- i marcatori di riassorbimento risultavano ridotti.

Sicurezza: ben tollerato, non differenze significative verso placebo.

4) Anticorpi anti-sclerostina: Conclusioni e Domande Aperte

- i risultati pre-clinici e clinici sembrano dimostrare guadagni maggiori e più rapidi della DMO rispetto a TPT e PTH (1-84),
- in attesa dei risultati che ne dimostrino l'efficacia anti-fratturativa,
- i marcatori di turn-over osseo tendono a ritornare ai valori basali dopo 12 mesi di trattamento,
- al momento non si sono evidenziati problemi di sicurezza,
- durata ottimale del trattamento?
- efficacia e la sicurezza nel lungo termine?
- chi e quando trattare in prima linea o in seconda linea?
- uso ciclico o in combinazione con anti-riassorbitivi?
- uso in particolari condizioni quali il "fracture healing" e l'insufficienza renale cronica?

INIBITORI DELLA CATEPSINA K

- 1) Razionale
- 2) Studi pre-clinici
- 3) Studi sull'uomo e Sicurezza
- 4) Conclusioni e Domande Aperte

1) Razionale

La Catepsina K (*CatK*) è una proteasi lisosomiale prodotta dagli osteoclasti, coinvolta nella degradazione del collagene tipo I e di altre proteine non-collageniche della matrice ossea (Figura 9). L'assenza congenita di *CatK* produce nell'uomo una rara displasia ossea, chiamata picnodisostosi, caratterizzata da una compromissione della capacità di degradare il collagene. Questo difetto determina un aumento della massa ossea, ma anche una compromissione della qualità del tessuto osseo, producendo una minore robustezza del tessuto minerale osseo e un incremento del rischio di frattura. La malattia è a trasmissione autosomica recessiva, e, mentre nei soggetti omozigoti si manifesta con un quadro di osteosclerosi (*che ricorda l'osteopetrosi*) e fratture ricorrenti, nei soggetti eterozigoti non manifesta il caratteristico aumento del rischio di frattura descritto nei pazienti omozigoti. Lo studio approfondito dei pazienti affetti da picnodisostosi e dei soggetti eterozigoti, e la migliore comprensione della funzione della *CatK*, ha posto le basi per una serie di studi pre-clinici e, successivamente, di studi sull'uomo volti a valutare gli effetti potenziali sul metabolismo osseo degli inibitori della *CatK*. Sebbene numerosi inibitori della *CatK* siano stati sviluppati e indagati (*prevalentemente studi pre-clinici*) nel corso degli ultimi 10 anni, solo alcuni di essi hanno raggiunto gli studi clinici di fase II. Numerose sono le motivazioni che hanno determinato l'interruzione dello sviluppo clinico di alcune di queste molecole. Le due ragioni principali sono state: la scarsa selettività per la *CatK* (es., il *Relacatib* era un pan-inibitore delle catepsine) e la comparsa di eventi avversi cutanei (*lesioni simil-scleroderma*).

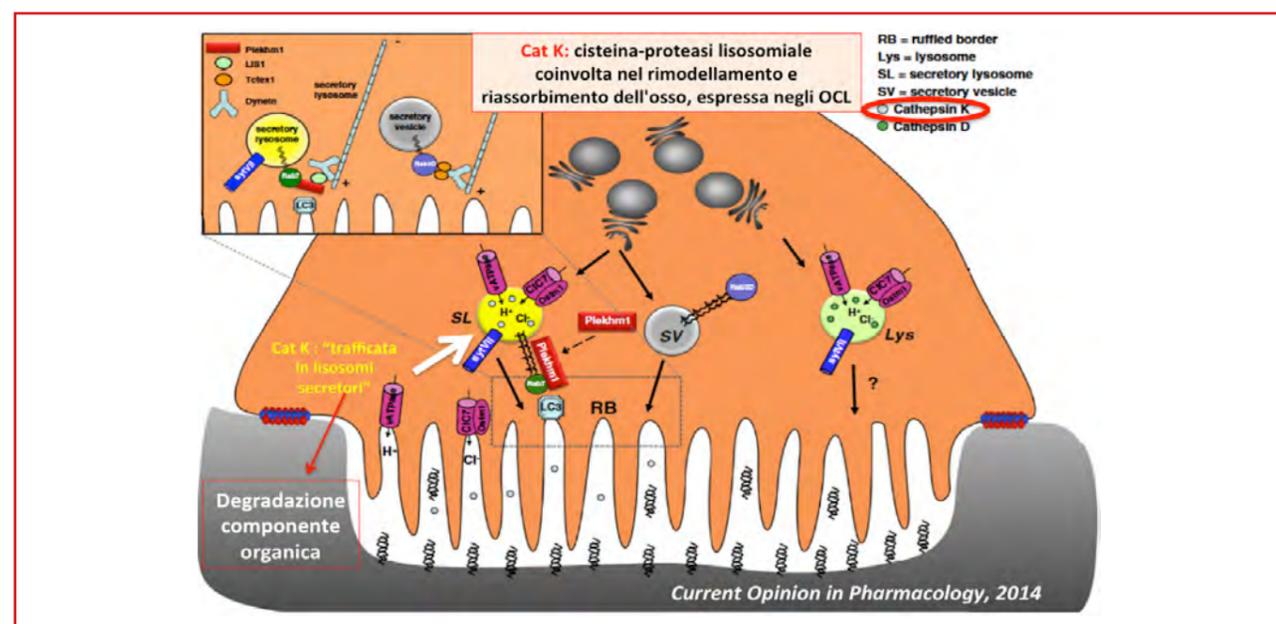


Figura 9. Osteoclasta, meccanismo d'azione della catepsina K.

2) Studi pre-clinici

Lo studio approfondito di modelli animali in cui la *CatK* non è espressa geneticamente, è inibita o è espressa in eccesso ha permesso di meglio definire le conseguenze di una sua carenza/inibizione sul tessuto minerale osseo e sul metabolismo scheletrico.

Nei ratti la mancata espressione del gene della *CatK* determina una riduzione del riassorbimento osseo ad opera degli osteoclasti e un incremento della neoformazione a livello trabecolare e corticale, producendo un fenotipo a elevata massa ossea; mentre la sua iperespressione determina

un incremento del turnover scheletrico e una riduzione significativa del volume osseo trabecolare. L'assenza di *CatK* sembrerebbe produrre un difetto nella capacità di degradazione della matrice ossea da parte degli osteoclasti, senza tuttavia produrre effetti significativi sulla differenziazione e fusione dei progenitori degli osteoclasti e sulla polarizzazione, sopravvivenza e capacità secretoria degli osteoclasti. Il risultato finale sarebbe la presenza, in ratti *CatK*^{-/-}, di un numero di osteoclasti multinucleati TRAP5b positivi nella norma o aumentato. È interessante osservare come una situazione analoga sia stata descritta in soggetti affetti da picnodisostosi, in cui, nelle biopsie transiliache, il numero di osteoclasti appariva conservato e simile ai soggetti sani.

Sulla base di queste ed altre osservazioni è stato quindi ipotizzato come gli agenti inibitori della *CatK* potessero produrre un effetto anti-riassorbitivo, attraverso una riduzione della capacità di degradare il collagene e la matrice ossea da parte degli osteoclasti, ma senza alterare la differenziazione degli osteoclasti o la loro sopravvivenza, a differenza di quanto avviene con i farmaci anti-riassorbitivi al momento disponibili (*bisfosfonati* e *denosumab*).

Gli effetti osteometabolici dell'inibizione farmacologica della *CatK* sono stati inizialmente investigati su primati e conigli con deficienza estrogenica, utilizzando dei peptidi inibitori della *CatK* progettati per legarsi al sito di legame del substrato. In due studi differenti condotti su macachi cynomolgus ovariectomizzati, i primati sono stati trattati con relacatib, un inibitore non selettivo delle catepsine, per nove mesi, o con balicatib, un inibitore della *CatK*, per diciotto mesi. In entrambi gli studi si è osservata una potente e dose-dipendente riduzione dei marcatori di riassorbimento osseo [C-telopeptide sierico (sCTX) e N-telopeptide urinario (uNTX) del collagene tipo I], e una prevenzione della perdita ossea. Inoltre lo studio istomorfometrico del tessuto osseo indicava una riduzione significativa degli indici di riassorbimento osseo a livello sia trabecolare che corticale. In un'altra serie di studi condotti su conigli e macachi rhesus estrogeno-deprivati, odanacatib, un potente inibitore selettivo della *CatK*, ha dimostrato di incrementare (*dose-dipendente*) la densità minerale ossea (DMO) a livello vertebrale e femorale, e di ridurre il sCTX e uNTX. In questi studi, il numero di osteoclasti, determinato con il dosaggio sierico del TRAP5b e con l'analisi istomorfometrica, risultava elevato. Recentemente, ONO-5443, potente inibitore della *CatK*, ha dimostrato di ridurre il calcio sierico (*incrementato da PTH-rp*) in ratti tiroideotomizzati e paratiroideotomizzati, e di ridurre i livelli sierici e urinari del CTX.

È interessante osservare come in alcuni degli studi condotti sui conigli o sui macachi, gli inibitori della *CatK* non interferivano sulla neoformazione ossea endocorticale, risultando non significativamente differente rispetto ai controlli non-trattati. Inoltre, inaspettatamente, balicatib e odanacatib hanno dimostrato di stimolare la formazione ossea periostale (*prevalentemente a livello femorale*), determinando un incremento della massa ossea corticale e dello spessore a livello del femore (*macaco*).

In conclusione, sulla base degli studi preclinici condotti su modelli animali, gli inibitori della *CatK* sembrerebbero avere un comportamento anti-riassorbitivo, mantenendo o stimolando la neoformazione ossea in tutti i siti scheletrici esaminati, e manifestando quindi anche proprietà "osteo-anaboliche" particolarmente spiccate a livello periostale. In confronto ad altri agenti anti-riassorbitivi, gli inibitori della *CatK* sarebbero in grado pertanto di ridurre il riassorbimento osseo (*riducendo la capacità di degradazione della matrice ossea da parte degli osteoclasti*) e favorire la formazione di osso corticale a livello di siti scheletrici estremamente rilevanti dal punto di vista meccanico. Sebbene non sia del tutto chiarito il meccanismo che sta alla base di questo "disaccoppiamento funzionale", sembrerebbe rilevante il fatto che gli inibitori della *CatK* non alterino la differenziazione e sopravvivenza degli osteoclasti, permettendo, quindi, il mantenimento della comunicazione tra osteoclasti e osteoblasti.

3) Studi sull'uomo e Sicurezza

Cinque differenti inibitori della CatK sono stati impiegati in studi clinici condotti in donne post-menopausali: MIV-701/MIV-710, Relacatib, Balicatib, Odanacatib, ONO 5334. Sebbene vi siano numerose differenze che caratterizzano queste diverse molecole, le principali e più rilevanti dal punto di vista clinico sono: il grado di selettività per la CatK e l'essere lisosoma-trofici o non-lisosoma-trofici.

In uno studio "dose-ranging" della durata di un anno, che ha arruolato 675 donne in post-menopausa affette da osteopenia/osteoporosi e trattate con dosi crescenti di Balicatib (*altamente selettivo per la CatK e lisosoma-trofico*), le due dosi più elevate di Balicatib, rispettivamente 25 mg e 50 mg, hanno dimostrato:

- di produrre una significativa riduzione dei marcatori di riassorbimento (sCTX del 61% e uNTx del 55%)
- di non produrre variazioni significative dei marcatori di neoformazione
- di incrementare in modo dose-dipendente la DMO a livello lombare (4,5%) e femorale (2,2%)

Sfortunatamente, lo sviluppo del farmaco è stato interrotto dal riscontro in alcuni dei pazienti trattati di eventi avversi cutanei, quali rash e lesioni simil-scleroderma. Si è ipotizzato che le lesioni cutanee registrate nel corso dello studio siano state provocate da alte concentrazioni di farmaco all'interno dei lisosomi, tali da produrre una cross-inibizione di altre catepsine, con conseguente inibizione del turnover derma-matrice.

ONO-5334 è un potente inibitore della CatK, con modesta selettività per le catepsine S, non-lisosoma-trofico. In uno studio di fase II, 285 donne affette da osteoporosi postmenopausale sono state randomizzate a ricevere placebo, alendronato 70 mg settimanale, oppure ONO-5334 alle dosi di 50 mg due volte al giorno, 100 mg o 300 mg una volta al giorno. ONO-5334 ha dimostrato di ridurre i marcatori di riassorbimento osseo (*effetto dose-dipendente*) sCTX e uNTX, con minimo o nessun effetto sui marcatori di neo-formazione, rispetto ad alendronato. In particolare, la dose di 300 mg al giorno ha dimostrato di:

- ridurre i marcatori di riassorbimento osseo in percentuale simile al alendronato settimanale
- incrementare significativamente il marcatore osteoclastico TRAP5b, a differenza del alendronato
- di incrementare in maniera significativa rispetto al placebo la DMO lombare (5,1%), del femore totale (3%) e del collo femorale (2,6%) dopo un anno di terapia, con risultati simili ottenuti anche nel gruppo in terapia con alendronato

Dal punto di vista della sicurezza, nonostante il limitato profilo di selettività, non venivano rilevati significativi eventi avversi ad un anno di terapia, nè tantomeno eventi avversi dermatologici (*simili tra trattamento e placebo*).

L'Odanacatib è un inibitore altamente selettivo della CatK, non-lisosoma-trofico, e tra gli inibitori della CatK è quello più avanzato nello sviluppo clinico, con studi di fase I, II ed in corso studio di fase III. Negli studi di fase I, Odanacatib è stato investigato sia a dosaggio giornaliero sia a dosaggio settimanale, dimostrando un'emivita tale (66-93 ore) da poter supportare lo sviluppo del farmaco con un regime di somministrazione settimanale.

Odanacatib - Fase II

Caratteristiche dello studio: studio "dose-finding" della durata di un anno, con successiva estensione (5 anni), che ha arruolato 399 donne postmenopausali con T-score DMO compreso tra -2 e -3,5, randomizzate a placebo e Odanacatib con dosaggi crescenti di 3 mg, 10 mg, 25 mg, e 50 mg settimanale (Figura 10). Gli outcomes principali erano la variazione della DMO e dei marcatori di rimodellamento osseo.

Risultati con la dose di Odanacatib testata più elevata di 50 mg alla settimana:

- dopo 12 mesi, la dose di 50 mg di Odanacatib riduceva significativamente del 58% il uNTX rispetto al placebo e determinava un significativo incremento della DMO femorale (2,5%) e lombare (3,4%), rispetto al placebo
- dopo 24 mesi, l'incremento della DMO lombare, femore totale e collo del femore verso placebo risultava rispettivamente del 5,7%, 4,1% e 4,7%
- nei primi 24 mesi, il uNTX risultava ridotto rispetto al basale
- nel corso dei primi 12 mesi i marcatori di neoformazione evidenziavano un lieve decremento (20%-30%), ma nel corso del secondo anno di terapia mostravano un trend in incremento con tendenza al ritorno ai valori basali,
- l'esame istomorfofomerico di un numero limitato di pazienti (32 donne da tutti i gruppi di trattamento) non evidenziava anomalie qualitative, e evidenziava un "activation frequency" e "bone-formation rate" non significativamente differente rispetto ai pazienti in terapia con placebo

Sicurezza: complessivamente Odanacatib era ben tollerato, e l'incidenza di eventi avversi (*particolarmente quelli cutanei e respiratori*) era bilanciata tra i diversi gruppi di trattamento ed il placebo.

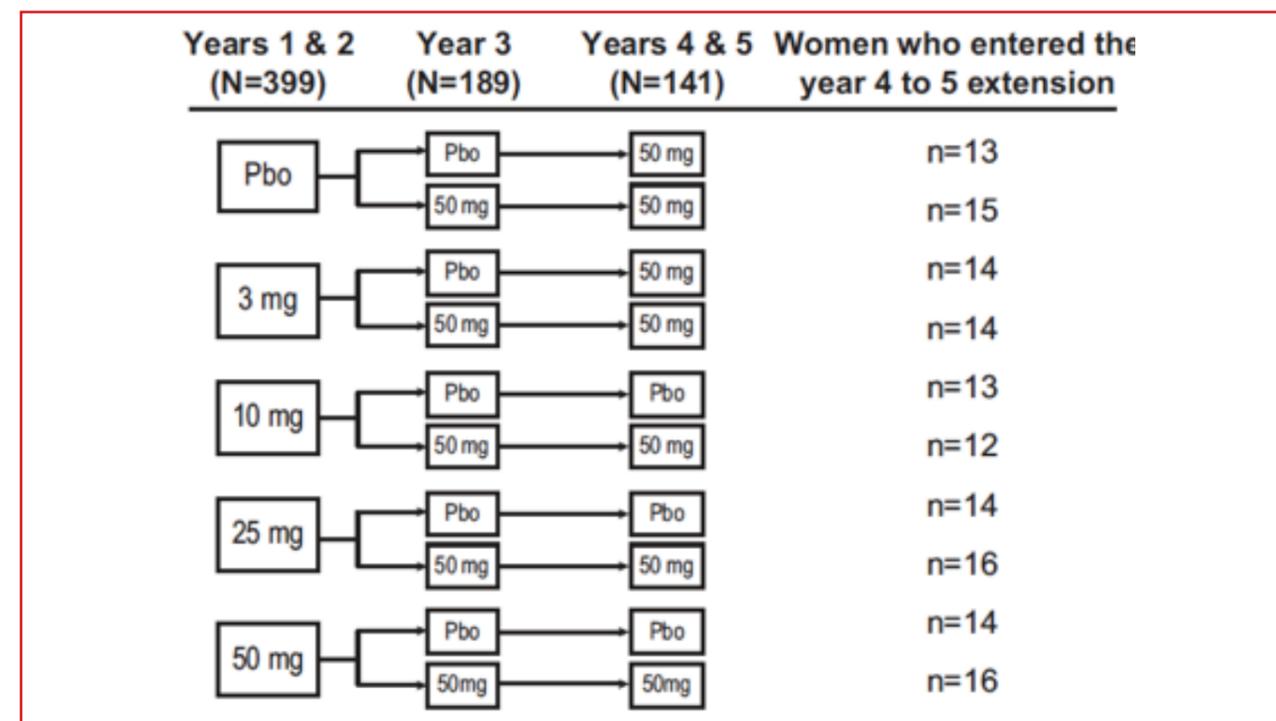


Figura 10. Disegno dello studio di fase II con Odanacatib a dosaggi crescenti verso placebo (Langdahl B et al., J Bone Miner Res 2011).

Nel corso dell'estensione dello studio, dopo il secondo anno di terapia (Figura 10), i pazienti (189) dello studio originale sono stati ri-randomizzati per ricevere Odanacatib 50 mg settimanale o placebo fino alla fine del terzo anno. Successivamente i pazienti trattati con 50 mg nel terzo anno hanno proseguito la terapia, mentre i pazienti trattati inizialmente con placebo o Odanacatib 3 mg sono passati a Odanacatib 50 mg (Figura 10).

Nel corso del terzo anno di terapia si sono osservati i seguenti risultati (Figura 11):

- i pazienti trattati continuamente con Odanacatib hanno evidenziato un continuo incremento della DMO nei siti esaminati
- nei pazienti trattati continuamente con Odanacatib si osservava inoltre una stabilizzazione dei marcatori di riassorbimento (che non evidenziavano un ulteriore decremento), e livelli dei marcatori di neo-formazione sovrapponibili al placebo

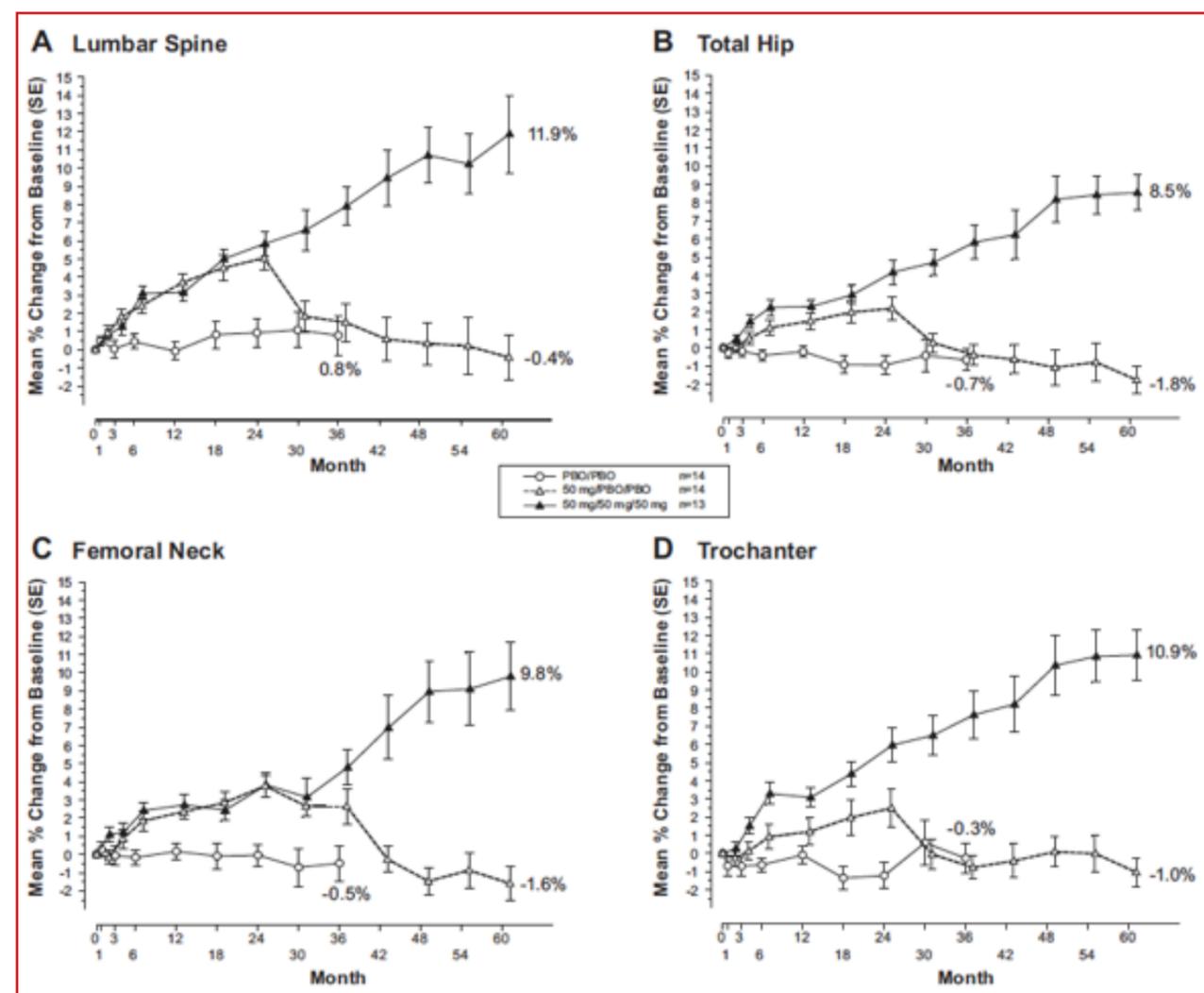


Figura 11. Effetto di Odanacatib sulla DMO lombare (A), femore totale (B), collo del femore (C) e trocantere (D) verso placebo, nel corso dei 5 anni di studio nei pazienti trattati per 3 anni con placebo (PBO/PBO), in quelli trattati per due anni con Odanacatib e successivamente con placebo (50 mg/PBO/PBO) e in quelli trattati continuamente con Odanacatib (Langdahl B et al., J Bone Miner Res 2011).

- nei pazienti che dopo due anni di terapia, erano passati a placebo, sospendendo la terapia, si osservava invece una riduzione della DMO che ritornava ai livelli basali o vicino ai livelli basali, ed un transitorio incremento dei marcatori di turnover che si risolveva entro la fine del terzo anno

I risultati a 5 anni erano simili e mostravano (Figura 11):

- incremento significativo rispetto al basale della DMO nelle donne trattate per 5 anni con Odanacatib del 11,9% a livello lombare, 8,5% a livello del femore totale e 9,5% a livello del collo del femore
- un livello di uNTX ridotto del 67,4% rispetto al basale
- un livello di fosfatasi alcalina ossea sovrapponibile al basale

Sicurezza a 5 anni: i dati relativi alla sicurezza fino a 5 anni di trattamento fanno riferimento ad un gruppo ridotto di pazienti, nei quali tuttavia non si sono evidenziati significativi eventi avversi.

Odanacatib - Fase III

In un piccolo studio di fase III condotto in 214 donne postmenopausali con ridotta DMO areale, l'effetto di Odanacatib verso placebo è stato studiato considerando la QCT del femore e della colonna lombare, la QCT ad alta risoluzione della tibia e del radio distale, oltre che la DMO misurata con la DXA e i marcatori di turnover. Come mostrato nella Figura 12, le donne trattate con Odanacatib evidenziavano:

- un significativo incremento trabecolare volumetrico a livello della colonna e del femore

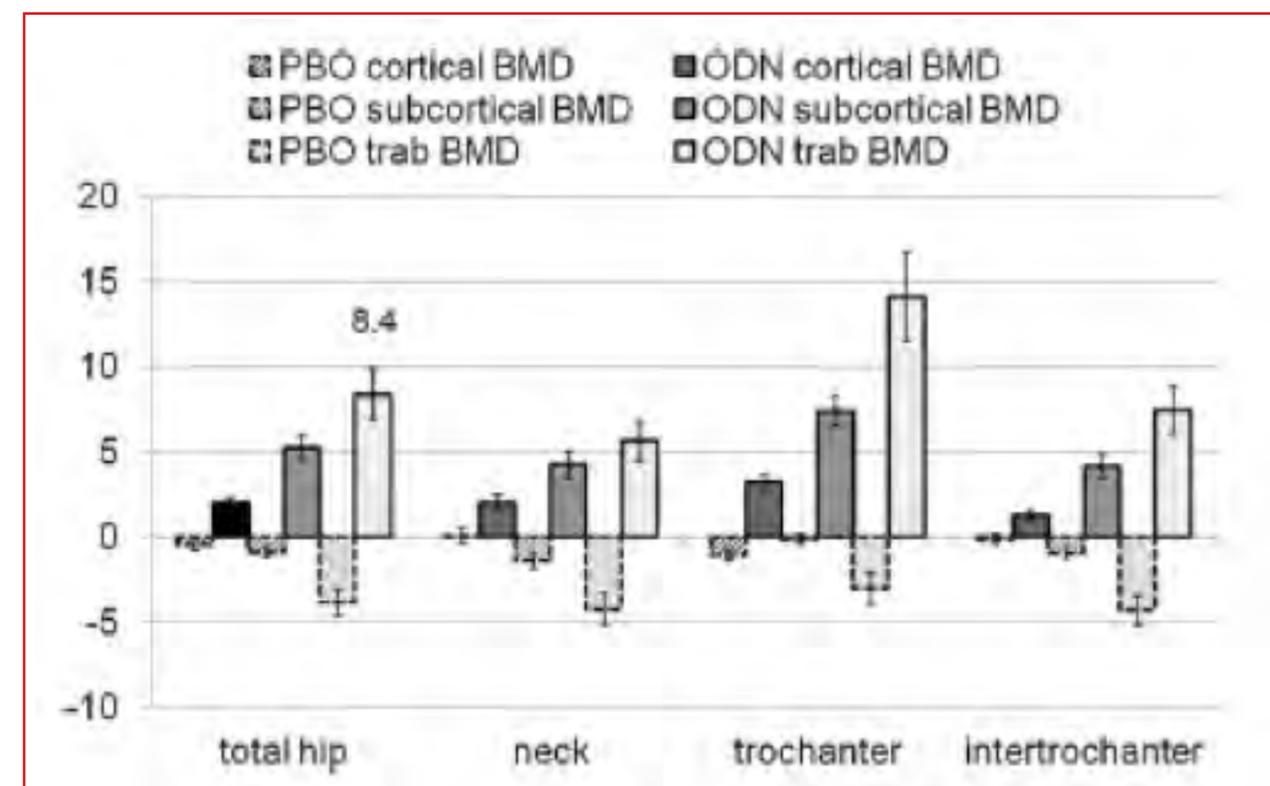


Figura 12. Effetto di Odanacatib sull'osso trabecolare e corticale del femore di donne postmenopausali verso placebo (Engelke K et al., J Bone Miner Res 2015).

- un significativo incremento, verso il basale e il placebo, del contenuto minerale osseo, spessore, volume e area “cross-sectional” a livello della corticale del collo femorale
- un significativo incremento rispetto al placebo della DMO volumetrica totale, trabecolare, corticale e dello spessore corticale a livello del radio e della tibia
- il significativo incremento del contenuto minerale osseo a livello del femore era simile nel comparto corticale e in quello trabecolare

In un altro studio, 243 donne affette da osteoporosi postmenopausale, precedentemente trattate con alendronato per almeno 3 anni, sono state randomizzate a placebo o Odanacatib. Lo studio era in doppio cieco e della durata di due anni. Le pazienti che dopo la terapia con alendronato, erano state randomizzate a Odanacatib, avevano mostrato un incremento della DMO lombare e femorale, significativo rispetto alle pazienti trattate con placebo. Inoltre il uNTX dimostrava una riduzione in corso di terapia con Odanacatib. Inaspettatamente, invece, il sCTX dimostrava un incremento.

I risultati definitivi del più importante studio di fase III, devono essere ancora pubblicati. Si tratta di uno studio registrativo che ha arruolato 16713 donne postmenopausali di età superiore o uguale a 65 anni, con ridotta DMO. Lo studio è stato disegnato per dimostrare l'efficacia anti-frattura di Odanacatib. Nel disegno, le donne sono state randomizzate a Odanacatib 50 mg settimanale o placebo per 3 anni. Gli outcomes primari erano l'incidenza di nuove fratture vertebrali morfometriche, fratture di femore e fratture cliniche non-vertebrali. I risultati preliminari presentati a Meeting Internazionali, hanno evidenziato:

- una riduzione del rischio relativo di nuove fratture morfometriche vertebrali del 54%
- una riduzione del rischio relativo di fratture di femore del 47%,
- una riduzione del rischio relativo di fratture non-vertebrali del 23%
- una riduzione del rischio relativo di fratture vertebrali cliniche del 72%

Sicurezza: nello studio registrativo di fase III l'incidenza di eventi avversi era sostanzialmente sovrapponibile tra i pazienti trattati con Odanacatib e quelli in Placebo. Diarrea e dolore alle estremità erano più frequenti nelle pazienti che avevano assunto Odanacatib. Infine, il monitoraggio di alcuni eventi avversi più specifici ha evidenziato:

- 12 casi di lesioni cutanee (*simil-morfea*) nel gruppo in terapia con Odanacatib e 3 casi nel Placebo (*incidenza di 5/10000 pazienti anno*)
- 5 casi di frattura atipica di femore nelle pazienti trattate con odanacatib

4) Inibitori CatK (Odanacatib): Conclusioni e Domande Aperte

- i risultati pre-clinici e clinici sembrano dimostrare significativi incrementi della DMO, comparabili rispetto al alendronato,
- i risultati preliminari dello studio registrativo indicherebbero una significativa efficacia di Odanacatib nella riduzione del rischio di frattura,
- gli effetti sui marcatori di turnover evidenzerebbero un significativo effetto anti-riassorbitivo, in assenza di una evidente e persistente riduzione della neoformazione ossea,

- l'effetto benefico di Odanacatib sembrerebbe interessare sia il compartimento corticale che il compartimento femorale,
- la sicurezza di Odanacatib deve essere ancora chiarita in riferimento agli eventi avversi cutanei ed alle fratture atipiche
- durata ottimale del trattamento?
- chi e quando trattare in prima linea o in seconda linea?
- uso ciclico o in combinazione con anti-riassorbitivi?

CONCLUSIONI

Sulla base di quanto descritto appare evidente come a breve avremo a disposizione due nuove classi di molecole per la prevenzione delle fratture nei pazienti osteoporotici. Sebbene siano premature considerazioni conclusive circa la loro efficacia e le loro caratteristiche, in attesa dei risultati definitivi dei trials registrativi, possiamo comunque evidenziare due punti rilevanti:

- 1) entrambi i farmaci appaiono avere un meccanismo d'azione che li differenzia significativamente dagli attuali anti-riassorbitivi ed osteo-anabolici. Nel caso degli inibitori della CatK questa differenza risulta dalla non interferenza con la neo-formazione ossea. Nel caso degli anticorpi anti-sclerostina invece si osserva un vero e proprio “disaccoppiamento” tra riassorbimento e formazione.
- 2) ambedue le categorie di molecole sembrano evidenziare effetti benefici significativi, a livello dei comparti trabecolare e corticale, che potrebbero avere implicazioni estremamente rilevanti in termini di riduzione del rischio di frattura.

BIBLIOGRAFIA:

1. Shah AD et al. Review, sclerostin inhibition: a novel therapeutic approach in the treatment of osteoporosis, *Int J Women's Health* 2015.
2. Baron R, Rawadi G. Targeting the Wnt/beta-catenin pathway to regulate bone formation in the adult skeleton. *Endocrinology*. 2007; 148(6):2635–2643.
3. Baron R, Kneissel M. WNT signaling in bone homeostasis and disease: From human mutations to treatments. *Nat Med*. 2013;19(2):179–192.
4. Brunkow ME, Gardner JC, Van Ness J, et al. Bone dysplasia sclerosteosis results from loss of the SOST gene product, a novel cystine knot-containing protein. *Am J Hum Genet*. 2001;68(3):577–58.
5. van Lierop AH, Hamdy NA, van Egmond ME, Bakker E, Dijkers FG, Papapoulos SE. Van Buchem disease: Clinical, biochemical, and densitometric features of patients and disease carriers. *J Bone Miner Res*. 2013;28(4):848–85.
6. Li X, Ominsky MS, Niu QT, et al. Targeted deletion of the sclerostin gene in mice results in increased bone formation and bone strength. *J Bone Miner Res*. 2008;23(6):860–869.
7. Tu X, Rhee Y, Condon KW, et al. SOST downregulation and local Wnt signaling are required for the osteogenic response to mechanical loading. *Bone*. 2012;50(1):209–217.
8. Li X, Ominsky MS, Warmington KS, et al. Increased bone formation and bone mass induced by sclerostin antibody is not affected by pretreatment or cotreatment with alendronate in osteopenic, ovariectomized rats. *Endocrinology*. 2011;152(9):3312–332.
9. Ominsky MS, Li C, Li X, et al. Inhibition of sclerostin by monoclonal antibody enhances bone healing and improves bone density and strength of nonfractured bones. *J Bone Miner Res*. 2011;26(5):1012–1021.
10. ClinicalTrials.gov [homepage on the Internet]. Romosozumab. ClinicalTrials.gov A service of the USNational-Institutes-of-Health, February 11, 2015.
11. Padhi D, Jang G, Stouch B, Fang L, Posvar E. Single-dose, placebocontrolled, randomized study of AMG 785, a sclerostin monoclonal antibody. *J Bone Miner Res*. 2011;26(1):19–2Costa AG, McClung MR, Grauer A, Boonen S, et al. Romosozumab in postmenopausal women with low bone mineral density. *N Engl J Med*. 2014; 370(5):412–420.
12. McColm J, Hu L, Womack T, Tang CC, Chiang AY. Single- and multiple-dose randomized studies of blosozumab, a monoclonal antibody against sclerostin, in healthy postmenopausal women. *J Bone Miner Res*. 2014;29(4):935–943.
13. Recker R, Benson C, Matsumoto T, et al. A randomized, double-blind phase 2 clinical trial of blosozumab, a sclerostin antibody, in postmenopausal women with low bone mineral density. *J Bone Miner Res*. 2015;30(2):216–224.
14. Cusano NE, Silva BC, Cremers S, Bilezikian JP. Cathepsin K: its skeletal actions and role as a therapeutic target in osteoporosis. *Nat Rev Rheumatol*. 2011 Jun 14;7(8):447–56.
15. Motyckova G, Fisher DE. Pycnodysostosis: role and regulation of cathepsin K in osteoclast function and human disease. *Curr Mol Med*. 2002 Aug;2(5):407–21.
16. Duong LT. Therapeutic inhibition of cathepsin K-reducing bone resorption while maintaining bone formation. *Bonekey Rep*. 2012 May 2;1:67.
17. Bone HG, Dempster DW, Eisman JA, Greenspan SL, McClung MR, Nakamura T, Papapoulos S, Shih WJ, Rybak-Feiglin A, Santora AC, Verbruggen N, Leung AT, Lombardi A. Odanacatib for the treatment of postmenopausal osteoporosis: development history and design and participant characteristics of LOFT, the Long-Term Odanacatib Fracture Trial. *Osteoporos Int*. 2015 Feb;26(2):699–712.

18. Kiviranta R, Morko J, Uusitalo H, Aro HT, Vuorio E, Rantakokko J. Accelerated turnover of metaphyseal trabecular bone in mice overexpressing cathepsin K. *J Bone Miner Res*. 2001 Aug;16(8):1444–52.
19. Stroup GB, Kumar S, Jerome CP. Treatment with a potent cathepsin K inhibitor preserves cortical and trabecular bone mass in ovariectomized monkeys. *Calcif Tissue Int*. 2009 Oct;85(4):344–55.
20. Jerome C, Missbach M, Gamse R. Balicatib, a cathepsin K inhibitor, stimulates periosteal bone formation in monkeys. *Osteoporos Int*. 2011 Dec;22(12):3001–11.
21. Masarachia PJ, Pennypacker BL, Pickarski M, Scott KR, Wesolowski GA, Smith SY, Samadfam R, Goetzmann JE, Scott BB, Kimmel DB, Duong LT. Odanacatib reduces bone turnover and increases bone mass in the lumbar spine of skeletally mature ovariectomized rhesus monkeys. *J Bone Miner Res*. 2012 Mar;27(3):509–23.
22. Pennypacker BL, Duong LT, Cusick TE, Masarachia PJ, Gentile MA, Gauthier JY, Black WC, Scott BB, Samadfam R, Smith SY, Kimmel DB. Cathepsin K inhibitors prevent bone loss in estrogen-deficient rabbits. *J Bone Miner Res*. 2011 Feb;26(2):252–62.
23. Peroni A, Zini A, Braga V, Colato C, Adami S, Girolomoni G. Drug-induced morphea: report of a case induced by balicatib and review of the literature. *J Am Acad Dermatol*. 2008 Jul;59(1):125–9.
24. Runger TM, Adami S, Benhamou CL, Czerwiński E, Farrerons J, Kendler DL, Mindeholm L, Realdi G, Roux C, Smith V. Morphea-like skin reactions in patients treated with the cathepsin K inhibitor balicatib. *J Am Acad Dermatol*. 2012 Mar;66(3):e89–96.
25. Falguyret JP, Desmarais S, Oballa R, Black WC, Cromlish W, Khougaz K, Lamontagne S, Massé F, Riendeau D, Toulmond S, Percival MD. Lysosomotropism of basic cathepsin K inhibitors contributes to increased cellular potencies against off-target cathepsins and reduced functional selectivity. *J Med Chem*. 2005 Dec 1;48(24):7535–43.



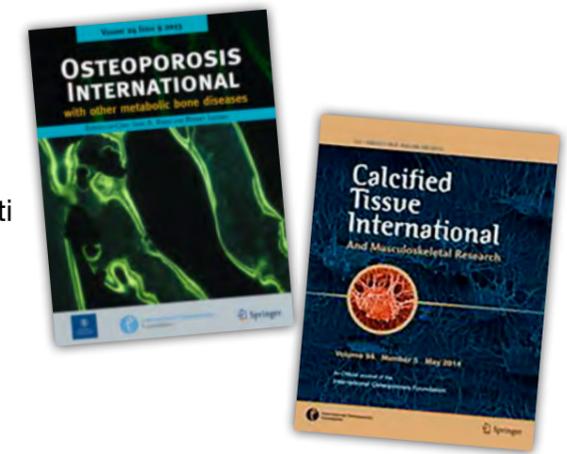
Se sei un Medico di famiglia o uno Specialista che si interessa di osteoporosi, ci sono diversi motivi per diventare un Socio SIOMMMS:

1.

Farai parte della comunità scientifica italiana impegnata nello studio e nella ricerca nell'ambito delle malattie metaboliche dell'osso, e in particolare dell'Osteoporosi che rappresenta una importante e diffusissima patologia degenerativa cronica dell'anziano, e non solo; potrai così confrontarti con gli altri Soci su temi professionali.

2.

Potrai accedere gratuitamente a due tra le più importanti riviste scientifiche di questa disciplina ("Osteoporosis International" e "Calcified Tissue International") scaricandone gli articoli *full text*.



3.

Potrai ricevere le notizie di SIOMMMS-IN FORMA, approfondimenti scientifici sul tema osteoporosi e malattie dell'osso, dove saranno analizzati argomenti di attualità.

4.

Potrai partecipare al congresso Nazionale della SIOMMMS e ai Corsi di formazione organizzati dalla Società usufruendo delle agevolazioni previste per i Soci.

5.

Potrai accedere a documenti di approfondimento sulla patologia.



Società Italiana dell'Osteoporosi
del Metabolismo Minerale
e delle Malattie dello Scheletro

Per maggiori informazioni
e per iscriversi alla SIOMMMS
www.siommmms.it