

# GLI AGENTI STIMOLANTI L'ERITROPOIESI: DALLE ORIGINI ALLE NUOVE SFIDE - LE INDICAZIONI DEGLI STUDI CLINICI

**Giuseppe Villa**

Divisione di Nefrologia ed Emodialisi, Fondazione "Salvatore Maugeri", I.R.C.C.S., Pavia

## Erythropoiesis-stimulating agents: from the origins to new challenges

*The structure, pharmacodynamics and pharmacokinetics of erythropoiesis-stimulating agents (ESAs) have changed from the first (rHuEPO) to the second (darbepoetin) and third generations (CERA), with an increase in glycosylated groups accompanied by a reduction of the affinity for the receptor and an increased half-life. After the initial success resulting from the correction of anemia, large observational trials have shown an increase in mortality related to higher hemoglobin values in kidney patients. Subsequent analysis of the trial results revealed that the cause of the worse outcomes was not the hemoglobin level but the high ESA dose. Resistance to ESAs resulting in their increased consumption is hepcidin mediated, as the hormone is upregulated by inflammatory factors and by a drop in the ESA level below the physiological erythropoietic threshold. This is where the ESA kinetics comes into play. Analysis of different databases has shown that the variability of hemoglobin levels over time caused outcomes to worsen and was correlated with frequent changes in the ESA dose. Many studies have demonstrated that third-generation ESAs ensure greater stability and physiological action, allowing to reduce dose changes and overshooting to a minimum.*

Conflict of interest: None

### KEY WORDS:

Renal anemia,  
C.E.R.A.,  
Darbepoetin,  
Erythropoetin,  
ESA resistance,  
Clinical Trials

### PAROLE CHIAVE:

Anemia renale,  
C.E.R.A.,  
Darbepoetina,  
Eritropoietina,  
Resistenza agli  
ESA,  
Studi clinici

### ✉ Indirizzo degli Autori:

Dr. Giuseppe Villa  
Divisione di Nefrologia ed Emodialisi  
Fondazione "S. Maugeri", IRCCS  
Via S. Maugeri 10  
27100 Pavia  
e-mail: Giuseppe.villa@fsm.it

## ANEMIA: L'EVOLUZIONE DELLA TERAPIA

Il sangue è stato considerato per millenni la sede dell'anima e dotato di poteri superiori e sacrali. Fin dall'antichità più remota è stato evidente quanto la sua carenza fosse negativa in termini sia soggettivi che oggettivi. Da qui lo sforzo della medicina, in ogni epoca, di correggere l'anemia. Dal mito di Medea, cantato da Ovidio, alle pratiche Egizie del bagno di sangue, a quelle Romane del bere il sangue dei gladiatori con l'intento di trarne la forza, tutti i tentativi di trasferire all'uomo le proprietà al sangue attribuite, sono stati limitati e drammaticamente frustrati da un grande deficit di conoscenze che ha resistito nei millenni. Solo nel '600, individuati da William Harvey i principi elementari della circolazione, si è compreso come la trasfusione potesse rappresentare una soluzione del problema e si è cominciato a distinguere tra "somministrazione" e "trasfusione". Ma la trasfusione

di sangue animale nell'uomo a quel tempo praticata, ha avuto, come per noi oggi ovvio, risultati devastanti, così come la trasfusione da uomo a uomo, continuata per tutto l'800, ma non supportata da adeguate conoscenze sulla compatibilità intra-specie. I gruppi sanguigni furono individuati da Landsteiner nel 1901 ed il fattore Rh nel 1940, ma solo alla fine del secondo conflitto mondiale l'operatività trasfusionale in Europa era in grado di tenere conto di quest'ultima scoperta. Nel 1945 veniva creato negli Stati Uniti il programma *American Red Cross* che istituzionalizzava la possibilità di correggere l'anemia all'interno di una struttura che garantisse un comportamento trasfusionale corretto per le conoscenze del tempo. Tutti sappiamo però come, ancora qualche decennio dopo, la trasfusione comportasse rischi di trasmissione di indesiderate patologie virali da donatore a ricevente.

Solo con la disponibilità dell'eritropoietina, verso la fine degli anni '80, si rivoluziona l'approccio tera-

peutico al problema con giganteschi progressi nella gestione, nella modulazione e nella sicurezza della terapia. In pazienti "fisiologicamente" anemici, come quelli affetti da Insufficienza Renale Cronica, l'uso di eritropoietina ricombinante (rHuEpo) ha portato ad un calo drastico del fabbisogno trasfusionale e ad un miglioramento straordinario della aspettativa e della qualità di vita non più penalizzate dagli effetti negativi dell'anemia.

## L'ERA DEGLI ESA

### Struttura, meccanismo d'azione e differenze farmacocinetiche degli ESA

L'eritropoietina endogena è un ormone glicoproteico costituito da 165 aminoacidi che stimola la proliferazione e la differenziazione dei globuli rossi. I suoi livelli ematici seguono un ritmo circadiano, sono sempre rilevabili nel sangue e possono aumentare in seguito all'ipossia. Per manifestare il suo effetto l'eritropoietina deve interagire con recettori specifici espressi sui progenitori dei globuli rossi del midollo osseo (1). Questa interazione determina un cambio di conformazione che consente alle due catene *Janus* del recettore di avvicinarsi. Da qui l'induzione di una serie di meccanismi intracellulari che mediano la trasduzione del segnale all'interno della cellula e la fosforilazione di diverse chinasi le quali, come ultimo obiettivo promuovono la sopravvivenza, la proliferazione e la differenziazione cellulare degli eritroblasti (2). Una volta che il recettore dell'eritropoietina è stato attivato, la risposta intracellulare prosegue per diversi minuti dopo che il ligando si è dissociato dal complesso recettoriale; per questo motivo non è necessaria l'occupazione prolungata o continua del recettore per la stimolazione dell'eritropoiesi (1). Il complesso recettore-eritropoietina va incontro ad internalizzazione e ai processi di degradazione caratteristici della *clearance* dell'eritropoietina stessa; le caratteristiche di legame con il recettore determinano quindi le principali caratteristiche farmacocinetiche dell'ormone (3).

L'eritropoietina, raggiunto il torrente circolatorio, interagisce a livello del midollo osseo con i precursori eritroidi (4). L'RNA messaggero (mRNA), che codifica per l'eritropoietina, si trova espresso in diversi tessuti, ma soprattutto nei fibroblasti peritubulari del rene. Il "pattern" di glicosilazione dell'EPO ricombinante risulta però leggermente diverso rispetto alle cellule umane perché presenta un maggiore numero di ramificazioni di acido sialico (fino a 14) rispetto alle 7-11 dell'eritropoietina naturale. La glicosilazione svolge un ruolo essenziale nella modulazione delle confor-

mazioni secondarie e terziarie della proteina stessa. Inoltre protegge dai fenomeni di idrolisi e contribuisce a regolare le diverse attività biologiche (5-8). L'aumentata quantità di carboidrati si accompagna a ridotta affinità recettoriale e aumentata emivita della molecola (9).

Nel 2001 vede la luce la darbepoietina, un ESA di seconda generazione caratterizzata da una modifica della molecola dell'eritropoietina alfa cui sono aggiunti due nuovi derivati di asparagina. Tale modifica - che permette di aumentare da 3 a 5 le catene saccaridiche legate all'aminoacido - aumenta la quota di carboidrati presenti sulla proteina (dal 30% dell'eritropoietina naturale al 40% nelle isoforme alfa e beta, fino al 52% nella darbepoietina alfa). I residui di acido sialico possono arrivare a 22, e il peso molecolare aumenta da 30.400 di rHuEpo a 37100 della darbepoietina (10). L'affinità con il recettore si riduce e l'emivita aumenta.

Infine nel 2008 viene reso disponibile un ESA di terza generazione, il C.E.R.A. Si ottimizzano le proprietà dell'eritropoietina beta, attraverso la "peghilazione", un processo di modificazione post-traduzionale che prevede la formazione di un legame amidico tra gli aminoacidi alanina e lisina con il metossi-poli(etilenglicole) (Metossi-PEG), un polimero di 30.000 kD. Il C.E.R.A. si distingue dalle altre eritropoietine ricombinanti per l'elevato peso molecolare (pari a circa 60.000 kD). La glicosilazione e quindi la modulazione post-trascrizionale dell'eritropoietina, determina una ridotta affinità di legame - e quindi una minore capacità delle cellule eritroidi di captare e degradare l'eritropoietina. Tutto ciò si traduce in un prolungamento dell'emivita (11, 12). L'emivita del C.E.R.A. raggiunge approssimativamente le 130 ore ed è sostanzialmente identica per somministrazione ev e sc, rispetto alle 20 o 49 ore per somministrazione sc e 8 o 25 ore per somministrazione ev per gli ESA di 1<sup>a</sup> e 2<sup>a</sup> generazione rispettivamente (13).

Sul piano clinico, alla fine degli anni '80 con la disponibilità dell'rHu-EPO (ESA di 1<sup>a</sup> generazione), si ottiene un epocale risultato con la radicale riduzione del numero di emotrasfusioni per i pazienti in dialisi e con un sostanziale miglioramento della loro anemia e della loro qualità di vita. Con la nascita della darbepoietina-alfa (ESA di 2<sup>a</sup> generazione) si aumenta la durata di azione *in vivo* con significativi vantaggi logistici specie nei pazienti con insufficienza renale cronica in terapia conservativa. Nel 2008 è disponibile il C.E.R.A. (ESA di 3<sup>a</sup> generazione), le cui caratteristiche di ridotto legame col recettore, emivita e durata d'azione molto più lunghe, mimando alcune fondamentali caratteristiche della cinetica dell'EPO naturale, consentono di affrontare le nuove sfide della terapia dell'anemia renale.

## GLI OBIETTIVI DELLA TERAPIA

Sono definiti dal *target* di emoglobina che ci si propone di raggiungere. I *target* sono derivati da numerosi studi che individuano gli *outcomes* migliori in funzione dei *target* stessi.

Dal 1997 sono state sviluppate diverse Linee Guida per il trattamento dell'anemia. Le Linee Guida si sono evolute con l'accrescersi delle evidenze cliniche e con la migliore comprensione dei benefici della correzione dell'anemia in diversi gruppi di pazienti con specifiche patologie, per esempio in pazienti con importanti comorbidità come l'insufficienza cardiaca e il diabete (14-19). Ci sono ancora alcune significative differenze fra Linee Guida emesse in differenti ambiti geografici (Fig. 1).

La SIN ha definito nel 2007 le Linee Guida per il trattamento dell'anemia (20) Tabella I.

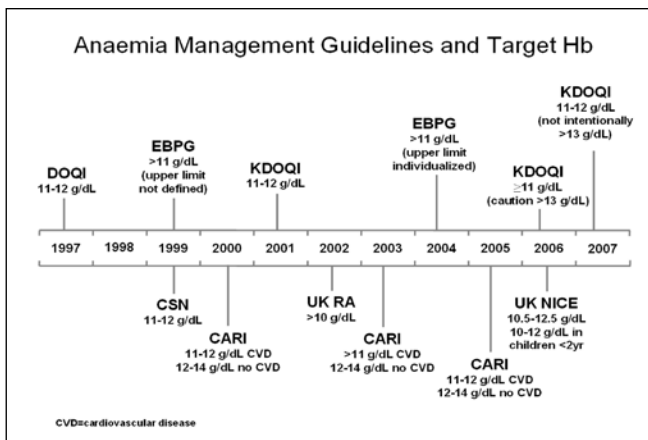


Fig. 1 - Linee guida pubblicate e target dell'Emoglobina nel trattamento dell'anemia.

## TABELLA I - LINEE GUIDA SIN 2007

Nei soggetti nefropatici cronici (non in terapia sostitutiva), un *target* di Hb pari a 11.3 g/dL andrebbe preferito rispetto a un *target* di Hb > 13.5 g/dL (livello di evidenza 2)

Il *target* Hb preferibile nei pazienti in trattamento sostitutivo emodialitico in assenza di cardiopatia severa può essere di 11.0-11.5 g/dL in virtù della mancata evidenza di un beneficio in termini di sopravvivenza con il ricorso a un *target* superiore (Hb=14.0 g/dL) (livello 2)

Il *target* Hb preferibile nei pazienti in trattamento sostitutivo emodialitico con cardiopatia severa (cardiopatia ischemica: angina pectoris in trattamento, rivascolarizzazione, infarto; scompenso cardiaco con necessità di ospedalizzazione o ultrafiltrazione accessoria) deve essere di 10.0-10.5 g/dL (livello 1)

*Target* di Hb progressivamente maggiori si associano ad un incremento della qualità di vita, benché questo parametro sia stato principalmente valutato in studi osservazionali o con il ricorso a scale di valutazione non validate (livello 1)

## GLI STUDI CLINICI COME STRUMENTO DI VALUTAZIONE DEI RISULTATI

### Gli outcomes clinici e il livello di Hb

La maggior parte degli studi di valutazione dell'impatto dei livelli di Hb sugli *outcomes* dei pazienti ha esaminato le associazioni tra valori basali di Hb e sopravvivenza senza considerare le variazioni delle misurazioni clinico-laboratoristiche nel corso del tempo. Nel 2006 Regidor (21) ha utilizzato modelli di regressione Cox tempo-dipendenti per studiare le associazioni longitudinali tra sopravvivenza, livelli di Hb e dose di ESA in un periodo di 2 anni in 50058 pazienti in emodialisi. Le analisi sono state condotte con tre modelli: 1) un modello non aggiustato, che includeva il livello di Hb come variabile predittiva e la mortalità per tutte le cause o cardiovascolare come variabile dell'esito; 2) un modello *case-mix* -aggiustato che includeva covariabili aggiuntive, come età, sesso e presenza o meno di diabete; 3) un modello *case-mix-MICS* (sindrome del complesso malnutrizione-infiammazione)-aggiustato che comprendeva altri 12 indicatori dello stato nutrizionale e dell'infiammazione. Si è osservato che, in tutti e tre i modelli, i livelli di Hb compresi tra 11.0 e 12.9 g/dL erano associati alla maggiore sopravvivenza. Un aumento stabile del rischio di mortalità è evidente con il decrescere dei livelli di Hb. Per livelli di Hb >13.5 g/dL si evidenziava una tendenza ad un aumento del rischio di mortalità. La somministrazione di qualsiasi dose di ESA era associata ad una sopravvivenza migliore, mentre tra i soggetti che ricevevano ESA, la necessità di assumere dosi più elevate era indicatore anche di un maggiore rischio di decesso. Queste analisi dimostrano che più un paziente è lontano dal livello di Hb compreso tra 11.0 e 12.9 g/dL, maggiore è il rischio di mortalità.

Vi sono forti evidenze che un livello di emoglobina inferiore a 11 g/dL si associ ad un aumento di mortalità cardiovascolare probabilmente mediato dallo sviluppo di ipertrofia ventricolare sinistra e a conseguente scompenso cardiaco (22).

I grandi studi osservazionali randomizzati confermano questi dati ed evidenziano come il limite superiore dell'Hb non sia chiaramente definito. Nello studio Choir (23), infatti, l'*endpoint* primario composto da morte, infarto miocardico, ospedalizzazione per insufficienza cardiaca cronica e *stroke*, si era verificato in 125 casi nel gruppo a *target* alto di Hb (13.5 g/dL), rispetto ai 97 casi nel gruppo a *target* basso di Hb (11.3 g/dL), con un HR di 1.34. Se le differenze non erano significative per infarto e *stroke*, raggiungevano il limite della significatività statistica per morte e ospedalizzazione per insufficienza cardiaca congestizia.

Il Create (24), conferma che non ci sono benefici aggiuntivi di tipo cardiovascolare nel trattamento di pazienti senza ipertrofia ventricolare sinistra nel raggiungere un livello di Hb normale per gli individui sani.

Infine il TREAT recentemente pubblicato (25), dimostra che pur non essendoci differenze nei due gruppi per gli *outcomes* cardiovascolari, vi è un andamento statisticamente peggiore per lo *stroke* fatale o non fatale, nel gruppo trattato con darbepoetina rispetto a quello in placebo.

È comunque evidente che, con ogni probabilità, le cause dell'aumento della mortalità associato al *target* basso e al *target* alto sono differenti.

### IL FATTORE PROGNOSTICO NEGATIVO NON È IL VALORE ASSOLUTO DI Hb MA LA RESISTENZA ALL'ESA

Nei *trials* clinici randomizzati, i pazienti assegnati al "low target" in genere lo raggiungono rapidamente, mentre solo una minoranza dei pazienti che ricevevano alte dosi di ESA e ferro raggiungevano il *target* aspettato (37% nel CHOIR, 38% nel CREATE e ~25% nel TREAT). Evidentemente, una larga proporzione dei pazienti studiati nei *trials* clinici randomizzati avevano un'anemia resistente al trattamento (26).

Si comincia ad avanzare l'ipotesi che la causa degli *outcomes* sfavorevoli non sia l'Hb alta, ma l'eccesso di farmaco (ESA): infatti, gli effetti sulla pressione arteriosa, quelli su endotelina-1, renina, angiotensina e prostaglandine, gli effetti sulla proliferazione delle cellule muscolari lisce vascolari, quelli sulle piastrine e sul sistema della coagulazione, gli effetti sul *pathway* dell'ossido nitrico sono tutti dose-dipendenti.

Inoltre, negli studi clinici randomizzati di confronto tra due *target* di Hb realizzati negli ultimi dieci anni, la dose di ESA pro kg di peso somministrata ai pazienti randomizzati al *target* alto, era sempre maggiore di quella somministrata al gruppo a *target* basso e, in particolare, negli studi numericamente più importanti, (Create, Choir, Treat) il rapporto era intorno a 2/1.

Alcune recenti post-analisi condotte su questi studi (27), hanno poi chiarito che in entrambi i bracci di trattamento i pazienti che raggiungevano il *target* di Hb loro assegnato mostravano un outcome migliore rispetto a quelli che non lo raggiungevano. Il rischio di mortalità diventava, invece, elevato tra quei pazienti che non raggiungevano il *target* loro assegnato nonostante l'utilizzo di dosi elevate di ESA.

Il rapporto tra dose e risposta è inversamente correlato. Più questo rapporto è alto, maggiore è il rischio di mortalità. Infatti, in tutti gli studi clinici controllati, pazienti che raggiungevano alti valori di Hb senza ri-

chiedere alte dosi di ESA non mostravano incrementi del rischio di mortalità. Quindi utilizzare i soli livelli di Hb come base prognostica per questa tipologia di pazienti può essere fuorviante. Pazienti che condividono lo stesso livello di Hb, seppure nel *target* raccomandato dalle Linee Guida, utilizzando però dosaggi di ESA differenti, potrebbero andare incontro ad una diversa incidenza di complicanze cardiovascolari.

Che la risposta agli ESA sia soggetta a grandi variazioni è concetto noto da molti anni anche se non erano note le cause e le implicazioni cliniche di questa differente risposta (28). Su dati Americani del 2005 (CMS CPS) tratti da un campione di più di 7500 pazienti, risulta che il 34% dell'EPO- $\alpha$  era usata dal 5% dei pazienti.

Fin dal 1998 (29), era noto che, in pazienti con malattia cardiaca, una dose alta di EPO/kg di peso corporeo, cioè una responsività ridotta al trattamento, era correlata ad una peggiore sopravvivenza.

Anche Zhang nel 2004 (30), ha dimostrato che, anche se la mortalità più elevata si osserva nei pazienti con Ht più basso, suddividendo il campione in quartili in funzione del consumo di ESA, la mortalità cresce con il consumo di farmaco.

### POSSIBILI CAUSE E MECCANISMI DELLA RESISTENZA AGLI ESA

Streja et al. (31), analizzando retrospettivamente il *database* DaVita con più di 40000 pazienti, hanno individuato 3 possibili *Key drivers* che ci indirizzano verso le possibili cause in grado di spiegare una maggiore mortalità in alcuni pazienti. L'ipotesi alla base del ragionamento di Streja è che il tentativo di raggiungere livelli più elevati di Hb (>13 g/dL) utilizzando dosi più elevate di ESA, si associ ad una deplezione delle riserve di ferro (riducendone la disponibilità) e ad una conseguente trombocitosi reattiva, che a sua volta potrebbe accrescere il rischio di eventi avversi cardiovascolari e di morte. La situazione di iposideremia funzionale che ne deriva, associata all'incremento di dosaggi di ESA a cui questi pazienti vanno incontro, alla lunga funzionerebbe da stimolo per un aumento del numero delle piastrine circolanti comportando un aumentato rischio trombo embolico che favorisce un aumento della mortalità. Gli Autori non considerano però il fatto che l'elevata dose di EPO potrebbe essere legata ad una iporesponsività al trattamento, dovuta, per esempio, ad un concomitante stato infiammatorio, che di per sé potrebbe benissimo condizionare una situazione di *deficit* funzionale di ferro.

Un aumento delle citochine proinfiammatorie in circolo è in grado di indurre uno stato di resistenza

all'eritropoietina, inibendo la maturazione delle cellule progenitrici eritroidi ed aumentando i livelli circolanti di epcidina. L'epcidina regola i livelli plasmatici di ferro mediante il controllo della ferroportina a livello macrofagico ed enterocitico. Un aumento dei livelli di epcidina comporta un'inibizione dell'assorbimento enterico del ferro e un sequestro del ferro nel sistema monocito-macrofagico con la conseguente diminuzione di disponibilità di ferro per l'eritropoiesi (32).

Nei pazienti in dialisi è possibile osservare una cronica attivazione del sistema immune responsabile di una continua produzione di citochine proinfiammatorie. L'emodialisi è causa di una cronica microinfiammazione legata al trattamento stesso: la contaminazione del dialisato, la bioincompatibilità delle membrane, la perdita di antiossidanti con il trattamento, determinano produzione di MCP1, Il-6, INF- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , citochine mediatrici dell'infiammazione che, sia nel breve che nel lungo periodo, sono alla base della sindrome MIA (malassorbimento - infiammazione - aterosclerosi) con conseguenze cliniche disastrose a livello nutrizionale, sulla patologia cardiovascolare e sull'anemia (33-36).

Recenti dati, *in vitro*, sottolineano anche l'importanza di mantenere stabili i livelli di eritropoietina circolante. La diminuzione dei livelli di EPO è in grado di stimolare, indipendentemente dall'infiammazione, la sintesi di epcidina aggravando l'ESA-resistenza, sostenuta dalla maggiore apoptosi dei precursori midollari a livello del midollo emopoietico, dalla maggiore quota di neocitolisi a livello sistemico e determinando una alterazione dell'omeostasi del ferro, fenomeni anch'essi scatenati dai bassi livelli di EPO circolante (37, 38).

Già Besarab nel 1992 (39), aveva fatto notare che per ottenere una risposta eritropoietica efficace era necessario mantenere il più a lungo possibile i livelli di eritropoietina stabili su livelli molto simili a quelli fisiologici circadiani. In questo modo, infatti, si eviterebbe l'innesco di quei meccanismi pro-infiammatori sopra descritti.

## L'IMPORTANZA DELLA CINETICA DEGLI ESA

L'EPO endogena ha un ritmo circadiano ed un livello ematico, nel range 30-100 mU/mL, che garantisce l'effetto eritropoietico. Al di sopra di questa soglia l'effetto eritropoietico si mantiene, a condizione che si realizzino altre condizioni permissivi (adeguate disponibilità di ferro, ecc.) e si osserva una *down regulation* dell'epcidina che ha un effetto favorevole sulla sopravvivenza degli eritrociti. La discesa al di sotto di questo livello, al contrario, determina, di per sé, l'attivazione di fenomeni di neocitolisi, l'*up-regulation*

dell'epcidina e l'aumento dell'apoptosi (40).

Applicando questo modello cinetico agli ESA disponibili oggi sul mercato, si osserva come in un mese, l'EPO di 1<sup>a</sup> generazione, somministrata ev, cada al di sotto della soglia eritropoietica dopo ogni dose (13 volte in un mese); la stessa EPO, somministrata sc, scenda al di sotto della soglia 7 volte su 13 somministrazioni mensili; l'ESA di 2<sup>a</sup> generazione sia per somministrazione ev che sc in un mese, mostra 4 cadute sotto gli stessi valori soglia, di minore entità rispetto a quelle dell'EPO di 1<sup>a</sup> generazione ed ancora più lievi per somministrazione sc; l'ESA di 3<sup>a</sup> generazione, infine, sia per somministrazione ev che sc non determina mai, in un mese, cadute di livello al di sotto della soglia eritropoietica (Fig. 2).

## LA NUOVA SFIDA DELLA STABILITÀ DELL'EMOGLOBINA

L'elaborazione dei dati dei grandi *database* ha fatto emergere un nuovo problema.

Nel 2005 Collins (41), ha pubblicato i dati di un'analisi retrospettiva dei *pattern* prescrittivi utilizzati per ottenere i livelli *target* di Hb nei pazienti con IRC di stadio 5 in emodialisi trattati con epoetina. L'analisi su un gruppo di 31267 pazienti ha evidenziato quanto basse fossero le percentuali di pazienti che erano rimasti allo stesso livello di Hb, sia sopra (>12 g/dL), che sotto (<11 g/dL) che all'interno del *target* (11-12 g/dL): in un periodo di 6 mesi, solo il 5% dei pazienti che avevano iniziato l'osservazione con un valore medio compreso nel *target range* NKF-K/DOQI, ne erano rimasti sempre all'interno. Percentuali leggermente maggiori si sono osservate nei pazienti del gruppo sopra il *target* (17%) e nel gruppo sotto il *target* (10%).

La fluttuazione dell'Hb è osservata anche da Ebben (42) su 152446 pazienti del sistema *Medicare*. La maggior parte dei pazienti (oltre il 90%) presenta fluttuazioni dei livelli di Hb nel tempo. Solo il 10.3% ha mantenuto livelli stabili di Hb nel corso dei 6 mesi di studio considerati, e solo il 6.5% entro i valori del *target range* di riferimento.

La mancanza di stabilità dell'Hb nel tempo correla in modo statisticamente molto significativo con la mortalità (43).

La variabilità, come facilmente intuibile, è tanto maggiore quanto più numerosi sono i cambi di dose dell'ESA somministrato al paziente. Il numero di variazioni di dose in un anno di terapia con ESA in un paziente in dialisi è elevato (6.3 variazioni per anno), ed ovviamente più elevato con gli ESA a breve durata d'azione (44). In questo lavoro Fishbane dimostra come l'84% delle fluttuazioni verso l'alto sia associate ad un aumento di dose, e il 62% delle fluttuazioni verso il basso ad una riduzione. Si va affermando

il concetto che meno numerosi sono i cambi di dose dell'ESA somministrato, più stabile è l'Hb del paziente con riflessi positivi sui suoi *outcomes*. Questo concetto emerge anche dalle più recenti metanalisi (45).

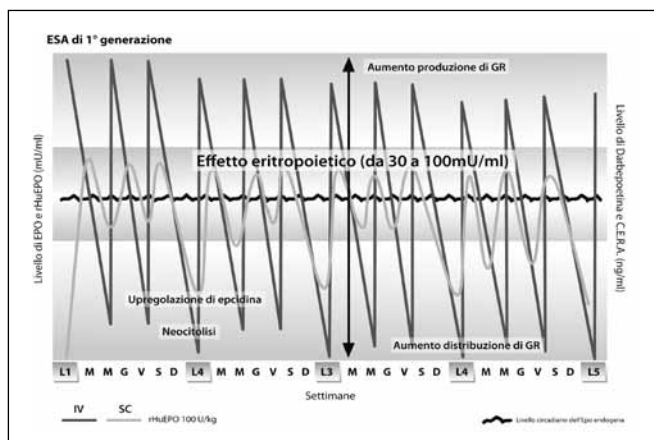


Fig. 2a - Effetto eritropoietico degli ESA di prima generazione.

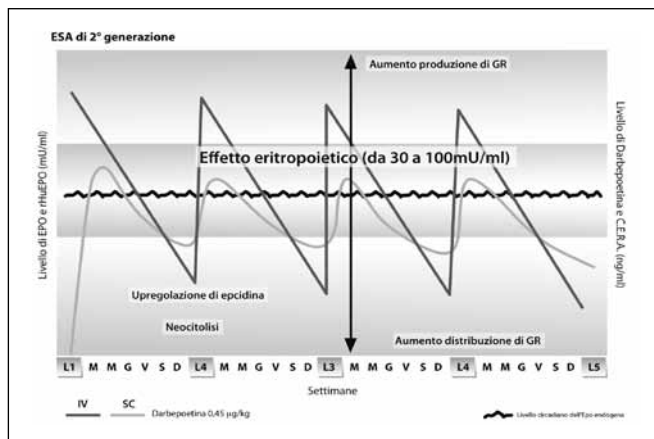


Fig. 2b - Effetto eritropoietico degli ESA di seconda generazione.

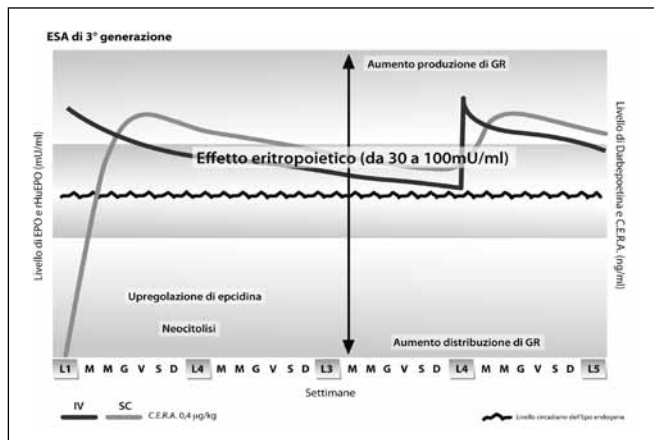


Fig. 2c - Effetto eritropoietico degli ESA di terza generazione.

### L'ESA DI 3<sup>A</sup> GENERAZIONE: SVILUPPO E VANTAGGI

Le caratteristiche farmacocinetiche, farmacodinamiche e quindi clinico-gestionali dell'ESA di 3<sup>a</sup> generazione (C.E.R.A.), sembrano potere offrire soluzioni razionali a queste emergenti problematiche.

Lo sviluppo del C.E.R.A. nell'anemia renale è stato molto importante per organicità, varietà di studi e numerosità della casistica a coprire tutte le possibili applicazioni del farmaco in questa indicazione ed ha rappresentato il più vasto programma di studi clinici controllati e randomizzati mai realizzato nello sviluppo di un ESA con risultati pubblicati al più alto livello (Fig. 3).

Nei 6 studi di Fase III, l'arruolamento dei pazienti è iniziato nel Marzo 2004 e gli studi si sono conclusi entro Gennaio 2006.

Il programma di Fase III ha coinvolto complessivamente 2400 pazienti provenienti da 29 nazioni di Europa, Africa, Australasia, Nord America, America Centrale e Sud America, dei quali circa 1500 trattati con C.E.R.A. Questi studi sono stati condotti in pazienti affetti da insufficienza renale cronica in dialisi o in terapia conservativa (Stadi 3-5), hanno messo a confronto C.E.R.A. con ESA di 1<sup>a</sup> e 2<sup>a</sup> generazione ed utilizzato sia la via di somministrazione ev che sc.

Due studi di correzione, AMICUS (46), ed ARCTOS (47), in pazienti in dialisi e in terapia conservativa e con somministrazione ev e sc rispettivamente, hanno valutato l'efficacia di C.E.R.A. con somministrazione ogni 2 o ogni 4 settimane rispetto ad epoetina  $\alpha$  o  $\beta$  (AMICUS) tre volte la settimana o a darbepoetina una volta la settimana (ARCTOS) in pazienti ESA-naïve.

Sono stati inoltre condotti 4 studi di mantenimento, MAXIMA (48), PROTOS (49), STRIATA (50) e RUBRA (51), in cui pazienti stabili, in terapia con epoetina o darbepoetina alfa, sono stati direttamente convertiti a

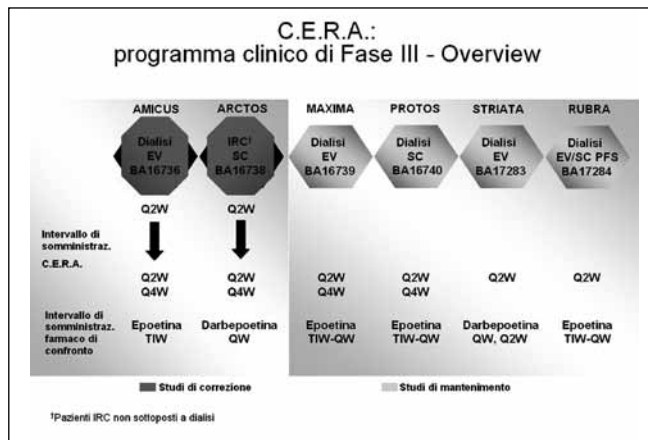


Fig. 3 - CERA - Gli studi clinici di Fase 3.

C.E.R.A. somministrato Q2W o Q4W con somministrazioni ev o sc o con siringhe preimpilate.

Infine, nel programma di studi post-registrativi, è stato recentemente pubblicato lo studio PATRONUS (52), un importante confronto testa a testa fra C.E.R.A. e darbepoetina, che ha dimostrato la superiorità del primo in somministrazione mensile.

Sintetizzando i risultati si è dimostrato (48) che, l'ESA di 3<sup>a</sup> generazione, somministrata una volta al mese a pazienti in dialisi con livelli stabili di Hb ottenuti con l'ESA di 1<sup>a</sup> generazione di confronto, ha consentito di mantenere la stabilità a *target* dell'Hb per l'intero anno di studio come nei pazienti del gruppo di controllo che ricevevano epoetina a intervalli di somministrazione molto più frequenti. Inoltre, negli studi Maxima e Protos di confronto con epoetina beta, a parità di livelli di Hb mantenuti stabili nei due bracci di studio, è possibile notare che rispetto agli ESA di 1<sup>a</sup> generazione, il braccio che utilizza C.E.R.A. una volta al mese, sia ev che sc, conserva una maggiore disponibilità di ferro e di saturazione della transferrina (53). Infatti, i parametri del metabolismo del ferro nel confronto tra i valori basali e quelli del periodo di valutazione (dopo 6 mesi dalla randomizzazione), risultano tutti (ferritina, sideremia, TSAT, percentuale di pazienti in terapia marziale, dose settimanale di ferro), statisticamente significativi a favore dell'ESA di 3<sup>a</sup> generazione, rispetto all'EPO beta, a riprova della maggiore "fisiologicità" del trattamento. L'analisi dei dati complessivi dei 4 studi di mantenimento (Maxima, Protos, Striata e Rubra) hanno dimostrato che i cambi di dose sono risultati significativamente meno numerosi nel gruppo C.E.R.A. rispetto a quello di controllo (54).

Infine è necessario osservare come la correzione con C.E.R.A. sia più lenta e dolce, rispetto ad ogni altra ESA (46), e come parimenti sia molto ridotto, contrariamente a quanto si potrebbe temere, il fenomeno dell'*overshooting*, come evidenziato in tutti gli studi di fase 3.

### Quali insegnamenti sono trasferibili nella pratica clinica?

I numerosi studi eseguiti in questo campo possono suggerirci alcuni comportamenti pratici:

- 1) Valutare bene il rapporto dose/risposta per ogni paziente prima di aumentare i dosaggi.
- 2) Monitorare bene la conta piastrinica e la TSAT.
- 3) Correggere le iposideremie e le carenze vitaminiche.

4) Ridurre al minimo, per quanto possibile, gli stimoli infiammatori.

5) Mantenere stabili e attorno ai *range* fisiologici i livelli di ESA.

Soprattutto bisogna evitare il più possibile i cambi di dose, ricordando i tempi di costruzione di un globulo rosso che, come sappiamo, sono di circa 25 giorni. La costruzione di un globulo rosso richiede la disponibilità di EPO nella prima fase di 14-21 giorni, e quella di ferro negli ultimi 4 giorni. Cambiare la dose di EPO prima di questi tempi equivale al comportamento di chi cambia la dose di un antibiotico perché dopo la prima dose persiste la febbre. Bisogna sapere attendere controllando l'impulso interventista al cambiamento di dose: il tempo di costruzione del globulo rosso (25 giorni) e la sua vita media (120 giorni) sono i determinanti principali della risposta agli ESA.

### RIASSUNTO

*Gli ESA hanno struttura, farmacodinamica e farmacocinetica diverse: dalla 1<sup>a</sup> (rHuEpo), alla 2<sup>a</sup> (darbepoetina) alla 3<sup>a</sup> generazione (C.E.R.A.) l'aumento della quantità di gruppi glicosilati si accompagna ad una riduzione dell'affinità per il recettore e ad un aumento dell'emivita. Dopo il successo della prima ora, derivante dalla correzione dell'anemia, i grandi trials osservazionali hanno evidenziato il dato negativo di una maggiore mortalità per valori più alti di Hb nei pazienti uremici; successivamente l'analisi dei risultati dei trials ha fatto emergere la convinzione che non fosse il livello di Hb, ma la dose elevata di ESA, responsabile del peggiore outcome dei pazienti. La resistenza agli ESA e quindi il suo maggior consumo, è mediata dall'epcidina stimolata da fattori infiammatori e dalla discesa del livello di ESA al di sotto della fisiologica soglia eritropoietica: la cinetica dell'ESA diviene così centrale. L'analisi di diversi database ha documentato come la variabilità nel tempo dell'Hb fosse causa del peggioramento degli outcomes e come la variabilità correli con la frequenza dei cambi di dose dell'ESA. Numerosi studi hanno dimostrato come l'ESA di 3<sup>a</sup> generazione garantisca maggiore stabilità e fisiologicità d'azione con cambi di dose e overshooting ridotti al minimo.*

### DICHIARAZIONE DI CONFLITTO DI INTERESSI

L'Autore dichiara di non avere conflitto di interessi.

## BIBLIOGRAFIA

1. Jelkmann W. Developments in the therapeutic use of erythropoiesis stimulating agents. *Br J Haematol* 2008; 141: 287-97.
2. Kaushansky K. Lineage-specific hematopoietic growth factors. *N Engl J Med* 2006; 354: 2034-45.
3. Walrafen P, Verdier F, Kadri Z, Chrétien S, Lacombe C, Maeyoux P. Both proteasomes and lysosomes degrade the activated erythropoietin receptor. *Blood* 2005; 105: 600-8.
4. Hodges VM, Rainey S, Lappin TR, Maxwell AP. Pathophysiology of anemia and erythrocytosis. *Crit Rev Oncol Hematol* 2007; 64: 139-58.
5. Boissel JP, Lee WR, Presnell SR, Cohen FE, Bunn HF. Erythropoietin structure-function relationships. Mutant proteins that test a model of tertiary structure. *J Biol Chem* 1993; 268: 15983-93.
6. Egrie JC, Browne JK. Development and characterization of novel erythropoiesis stimulating protein (NESP). *Nephrol Dial Transplant* 2001; 16 (Suppl. 3): 3-13.
7. Skibeli V, Nissen-Lie G, Torjesen P. Sugar profiling proves that human serum erythropoietin differs from recombinant human erythropoietin. *Blood* 2001; 98: 3626-34.
8. Rademacher TW, Parekh RB, Dwek RA. *Glycobiology*. Annu Rev Biochem 1988; 57: 785-838.
9. Egrie JC, Browne JK. Development and characterization of novel erythropoiesis stimulating protein (NESP). *Br J Cancer* 2001; 84 (Suppl. 1): 3-10.
10. Macdougall IC, Eckardt K. Novel strategies for stimulating erythropoiesis and potential new treatments for anaemia. *Lancet* 2006; 368: 947-53.
11. Brandt M, Lanzendörfer M, Frische J, Haselbeck A, Jarsch M. Different receptor binding activity of C.E.R.A. (Continuous Erythropoietin Receptor Activator) compared with epoetin beta determined by surface plasmon resonance and competition assay on UT-7 cells. *Nephrol Dial Transplant* 2006; 21 (Suppl. 4): iv9 (abstract S0018).
12. Jarsch M, Brandt M, Lanzendörfer M, Haselbeck A. Comparative erythropoietin receptor binding kinetics of C.E.R.A. and epoetin-beta determined by surface plasmon resonance and competition binding assay. *Pharmacology* 2008; 81: 63-9.
13. Macdougall IC, Robson R, Opatrna S, et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of intravenous and subcutaneous continuous erythropoietin receptor activator (C.E.R.A.) in patients with chronic kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol* 2006; 1: 1211-5.
14. Locatelli F. *Nephrol Dial Transplant* 2004; 19 (Suppl. 2): 1-43.
15. NKF-KDOQI. *AJKD* 2001; 37 (Suppl. 1): S182-238.
16. NKF-KDOQI. *AJKD* 2006; 47 (Suppl. 3): S11-145.
17. CARL. [www.cari.org.au/dialysis\\_bht\\_updating.php](http://www.cari.org.au/dialysis_bht_updating.php), 2005.
18. Renal Association. [www.renal.org/Standards/RenalStandards\\_2002b.pdf](http://www.renal.org/Standards/RenalStandards_2002b.pdf), 2002.
19. CSN. <http://csnscn.ca/local/files/guidelines/CSN-Guidelines-1999.pdf>, 1999.
20. Canavese C, Strippoli GFM, Bonomini M, Triolo G. Target ottimale di emoglobina per l'insufficienza renale cronica: Linea Guida. *G Ital Nefrol* 2007; 24 (Suppl. 37): S99-106.
21. Regidor DL, Kopple JD, Kovesdy CP, et al. Associations between changes in hemoglobin and administered erythropoiesis-stimulating agent and survival in hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17: 1181-91.
22. Ofsthun NJ, LaBrecque J, Keen M, Youngson HI, Krishnan M, Lazarus JM. The association of mortality and hospitalisation with Hemoglobin (Hb) and misses dialysis treatments in stage 5 chronic kidney disease (CKD) patients. *Nephrol Dial Transpl* 2005; 20 (Suppl. 5): v266 - abstract MP204.
23. Singh AK, Szczech L, Tang KL, et al. CHOIR Investigators. Correction of anemia with epoetin alfa in chronic kidney disease. *N Engl J Med* 2006; 355 (20): 2085-98.
24. Drüeke TB, Locatelli F, Clyne N, et al. CREATE Investigators. Normalization of hemoglobin level in patients with chronic kidney disease and anemia. *N Engl J Med* 2006; 355 (20): 2071-84.
25. Pfeffer MA, Burdman EA, Chen CY, et al. TREAT Investigators. A trial of darbepoetin alfa in type 2 diabetes and chronic kidney disease. *N Engl J Med* 2009; 361 (21): 2019-32.
26. Vaziri ND. Anemia and anemia correction: surrogate markers or causes of morbidity in chronic kidney disease? *Nat Clin Pract Nephrol* 2008; 4 (8): 436-45. Epub 2008 Jun 10.
27. Szczech LA, Barnhart HX, Inrig JK, et al. Secondary analysis of the CHOIR trial epoetin-alpha dose and achieved hemoglobin outcomes. *Kidney Int* 2008; 74 (6): 791-8.
28. Eschbach J W, Abdulhadi MH, Browne JK, et al. Recombinant human erythropoietin in anemic patients with end-stage renal disease. Results of a phase III multicenter clinical trial. *Ann Intern Med* 1989; 111: 992-1000.
29. Besarab A, Bolton WK, Browne JK, et al. The effects of normal as compared with low hematocrit values in patients with cardiac disease who are receiving hemodialysis and epoetin. *N Engl J Med* 1998; 339: 584-90.
30. Zhang Y, Thamer M, Stefanik K, Kaufman J, Cotter DJ. Epoetin requirements predict mortality in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 2004; 44 (5): 866-76.
31. Streja E, Kovesdy CP, Greenland S, et al. Erythropoietin, iron depletion, and relative thrombocytosis: a possible explanation for hemoglobin-survival paradox in hemodialysis. *Am J Kidney Dis* 2008; 52 (4): 727-36.
32. van der Putten K, Braam B, Jie KE, Gaillard CA. Mechanisms of disease: erythropoietin resistance in patients with both heart and kidney failure. *Nat Clin Pract Nephrol* 2008; 4 (1): 47-57.
33. Stenvinkel P, Alvestrand A. Inflammation in end-stage renal disease: sources, consequences, and therapy. *Semin Dial* 2002; 15: 329-37.
34. Libby P. Inflammation in atherosclerosis. *Nature* 2002; 420: 868-74.
35. McDougall IC. Could anti-inflammatory cytokine therapy improve poor treatment outcomes in dialysis patients? *Nephrol Dial Transplant* 2004; 19 (Suppl. 5): v73-8.
36. Schindler R. Causes and therapy of microinflammation in renal failure. *Nephrol Dial Transplant* 2004; 19 (Suppl. 5): v34-40.
37. Muckenthaler MU. Fine tuning of hepcidin expression by positive and negative regulators. *Cell Metab* 2008; 8 (1): 1-3.
38. Pinto JP, Ribeiro S, Pontes, et al. Erythropoietin mediates hepcidin expression in hepatocytes through EPOR signaling and regulation of C/EBPalpha. *Blood* 2008; 111 (12): 5727-33.
39. Besarab A, Flaharty KK, Erslev AJ, et al. Clinical Pharmacology and economics of recombinant human erythropoietin in end stage-renal disease: the case of subcutaneous administration. *J Am Soc Nephrol* 1992; 2 (9): 1405-16.
40. Pasqualetti P, Collacciani A, Casale R. Circadian rhythm of serum erythropoietin in myelodysplastic syndromes. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2000; 4 (5-6): 111-5.
41. Collins AJ, Brenner RM, Ofman JJ, et al. Epoetin alfa use in patients with ESRD: an analysis of recent US prescribing patterns and hemoglobin outcomes. *Am J Kidney Dis* 2005; 46: 481-8.
42. Ebben JP, Gilbertson DT, Foley RN, Collins AJ. Hemoglobin level variability: associations with comorbidity, intercurrent events, and hospitalizations. *Clin J Am Soc Nephrol* 2006; 1: 1205-10.
43. Gilbertson DT, Ebben JP, Foley RN, Weinhandl ED, Bradbury BD, Collins AJ. Hemoglobin level variability: associations with mortality. *Clin J Am Soc Nephrol* 2008; 3 (1): 133-8. Epub 2007 Nov 28.
44. Fishbane S, Berns JS. Hemoglobin cycling in hemodialysis patients treated with recombinant human erythropoietin. *Kidney Int* 2005; 68: 1337-43.



45. Lau JH, Gangji AS, Rabbat CG, Brimble KS. Impact of haemoglobin and erythropoietin dose changes on mortality: a secondary analysis of results from a randomized anaemia management trial. *Nephrol Dial Transplant* 2010 Jun 8. (Epub ahead of print).
46. Klinger M, Arias M, Vargemezis V, et al. Efficacy of intravenous methoxy polyethylene glycol-epoetin beta administered every 2 weeks compared with epoetin administered 3 times weekly in patients treated by hemodialysis or peritoneal dialysis: a randomized trial. *Am J Kidney Dis* 2007; 50: 989-1000.
47. Macdougall IC, Walker R, Provenzano R, et al. ARCTOS study Investigators. C.E.R.A. corrects anemia in patients with chronic kidney disease not on dialysis: results of a randomized clinical trial. *Clin J Am Soc Nephrol* 2008; 3 (2): 337-47.
48. Levin NW, Fishbane S, Cañedo FV, et al. MAXIMA study investigators. Intravenous methoxy polyethylene glycol-epoetin beta for haemoglobin control in patients with chronic kidney disease who are on dialysis: a randomised non-inferiority trial (MAXIMA). *Lancet* 2007; 370: 1415-21.
49. Sulowicz W, Locatelli F, Rychelynck JP, et al. PROTOS Study Investigators. Once-monthly subcutaneous C.E.R.A. maintains stable hemoglobin control in patients with chronic kidney disease on dialysis converted directly from epoetin one to three times weekly. *Clin J Am Soc Nephrol* 2007; 2: 637-46.
50. Canaud B, Mingardi G, Braun J, et al. STRIATA Study Investigators. Intravenous C.E.R.A. maintains stable haemoglobin levels in patients on dialysis previously treated with darbepoetin alfa: results from STRIATA, a randomized phase III study. *Nephrol Dial Transplant* 2008; 23: 3654-61.
51. Spinowitz B, Coyne DW, Lok CE, et al. RUBRA Study Investigators. C.E.R.A. maintains stable control of hemoglobin in patients with chronic kidney disease on dialysis when administered once every two weeks. *Am J Nephrol* 2008; 28: 280-9.
52. Carrera F, Lok CE, de Francisco A, et al. On behalf of the PATRONUS Investigators. Maintenance treatment of renal anaemia in haemodialysis patients with methoxy polyethylene glycol-epoetin beta versus darbepoetin alfa administered monthly: a randomized comparative trial. *Nephrol Dial Transplant* 2010 Jun 3. (Epub ahead of print) PMID: 20522670.
53. Nissenson AR, Macdougall IC, Besarab A, Del Aguila M, Luo W, Heifets M. Once monthly C.E.R.A. maintains stable Hemoglobin (Hb) in Patients (Pts) with chronic kidney disease (CKD), irrespective of baseline iron levels - ASN 2007 Abstract.
54. Mann et al. EDTA 2008; Abs SP369.