

**TERAPIA FARMACOLOGICA****FARMACI ANTI-INFIAMMATORI****GIUSEPPE DANILO NORATA, ANGELA PIRILLO**

Le evidenze che legano la risposta infiammatoria allo sviluppo dell'aterosclerosi sono numerose ed hanno portato a valutare, attraverso diversi studi clinici, numerose molecole che agiscono controllando la cascata dell'infiammazione con lo scopo di migliorare la patologia aterosclerotica. Tra questi ci sono farmaci in grado di bloccare vie specifiche come quella dell'interleuchina 1 beta (IL-1 $\beta$ ) e dell'IL-6, oppure farmaci con uno spettro d'azione più ampio, come il metotrexato o la colchicina. Parallelamente, diversi studi in ambito preclinico sono volti a comprendere l'efficacia di interferire con l'attivazione dell'inflammasoma o di specifiche chemochine che regolano il reclutamento delle cellule immunitarie nella parete vasale.

**Terapia anti-interleuchina 1 beta (IL-1 $\beta$ )**

IL-1 $\beta$  è coinvolta nella progressione della placca aterosclerotica attraverso il suo ruolo nel supportare la risposta infiammatoria vascolare (1), attraverso il controllo di altri mediatori come IL-6, favorisce l'adesione delle cellule infiammatorie all'endotelio vasale e stimola la produzione di collagenasi nella parte vasale, contribuendo ad una maggior vulnerabilità della placca (2). Questi aspetti rendono IL-1 $\beta$  un target particolarmente interessante anche in ambito di patologie cardiovascolari.

Lo studio CANTOS (3) è stato disegnato per valutare l'efficacia di canakinumab, un anticorpo anti-IL-1 $\beta$ , nel ridurre il rischio infiammatorio residuo nei pazienti con livelli di LDL-C sotto controllo (valore al basale 82 mg/dL) e migliorare l'*outcome* cardiovascolare.

Lo studio ha arruolato 10.061 pazienti con una storia di infarto al miocardio e un livello di hs-CRP >2 mg/L che sono stati randomizzati in quattro gruppi di trattamento. Tutti i partecipanti hanno ricevuto un trattamento di prevenzione secondaria raccomandata dalle linee guida, compresi antiplastrinici e statine. I pazienti sono stati randomizzati a tre differenti dosaggi di canakinumab (50 mg, 150 mg o 300 mg) somministrati ogni 3 mesi oppure placebo. Dopo 48 mesi, coloro che avevano ricevuto 150 mg o 300 mg di canakinumab hanno avuto una riduzione dal 35% al 40% di hs-CRP rispetto al placebo, mentre non sono state osservate riduzioni significative di LDL-C. L'*endpoint* primario dello studio mirava a valutare il primo evento di MACE (*Major Adverse Cardiovascular Event*), definito come un composito di infarto al miocardio non fatale, ictus non fatale o morte per cause cardiovascolari. Canakinumab ha ridotto significativamente questo *endpoint* e sono stati osservati 3,86 eventi ogni 100 persone/anno nel gruppo che ha ricevuto la dose di 150 mg rispetto a 4,5 eventi per 100 persone/anno nel gruppo placebo,

pari a una riduzione del rischio relativo di MACE del 15% (HR, 0,85; IC al 95%, da 0,74 a 0,98;  $p=0,0208$ ). Una riduzione simile è stata osservata anche nel gruppo che ha ricevuto la dose di 300 mg, sebbene non sia stata raggiunta la soglia per la significatività statistica (HR, 0,86; IC 95%, da 0,75 a 0,99;  $p=0,0314$ ; valore  $p$  soglia di 0,0106). Non è stato invece osservato un beneficio nel gruppo che ha ricevuto la dose di 50 mg di canakinumab rispetto al placebo (HR, 0,93; IC 95%, 0,80 a 1,07;  $p=0,30$ ). È importante sottolineare che l'analisi del sottogruppo dei partecipanti trattati con canakinumab e che hanno raggiunto un livello di hs-CRP <2 mg/L ha mostrato una riduzione del 25% di MACE (HR, 0,75; IC al 95%, da 0,66 a 0,85;  $p<0,0001$ ), mentre il gruppo in cui non è stata osservata una riduzione rilevante di hs-CRP non ha mostrato alcun beneficio significativo (HR, 0,90; IC al 95%, da 0,79 a 1,02;  $p=0,11$ ) (4). Allo stesso modo, i partecipanti che hanno raggiunto livelli di IL-6 inferiori al livello mediano dello studio (1,65 ng/L) hanno mostrato una riduzione del 32% in MACE (HR, 0,68; 95% CI, da 0,56 a 0,82;  $p<0,0001$ ). È importante notare, tuttavia, che il trattamento con canakinumab è stato associato con un'incidenza significativamente più alta di infezioni fatali rispetto al placebo (tasso di incidenza 0,31 contro 0,18 eventi ogni 100 persone/anno;  $p=0,02$ ) (5). Un risultato inatteso è stata l'osservazione che nel gruppo trattato con canakinumab 300 mg c'è stata una significativa riduzione dell'incidenza di cancro ai polmoni (HR, 0,33; IC 95%, da 0,18 a 0,59;  $p<0,0001$ ) e della mortalità per cancro ai polmoni (HR, 0,23; IC 95%, da 0,10 a 0,54;  $p=0,0002$ ) rispetto al placebo (6).

Lo studio CANTOS rappresenta ad oggi una tra le più forti evidenze che l'inibizione della cascata di segnalazione IL-1 $\beta$ /IL-6 riduce significativamente il rischio cardiovas-

colare, indipendente dalla riduzione dei livelli di lipidi circolanti. Tuttavia, questo effetto è controbilanciato da un aumentato rischio di infezioni gravi.

#### *Riposizionamento di farmaci antinfiammatori ad ampio spettro:*

##### *Metotrexato e Colchicina*

La dimostrazione dell'efficacia clinica dell'inibizione di IL-1 $\beta$  sull'*outcome* cardiovascolare ha stimolato un maggiore interesse nel testare altre terapie antinfiammatorie per il trattamento delle malattie aterosclerotiche cardiovascolari, compreso il riposizionamento di agenti più economici e ben consolidati, come il metotrexato e la colchicina. L'efficacia di queste molecole dotate di ampie proprietà antinfiammatorie è stata recentemente testata in due ampi studi di Fase III.

Metotrexato è un farmaco utilizzato come trattamento di prima linea per patologie caratterizzate da infiammazione sistemica, inclusa l'artrite reumatoide. A basso dosaggio, metotrexato modula la risposta infiammatoria attraverso l'inibizione di aminoimidazolo-4-carbossamide ribonucleotidasi, che porta ad un aumento dei livelli di adenosina. In questo modo viene ridotta la produzione di citochine proinfiammatorie (IL-12, IL-6, TNF- $\alpha$ ) e aumentata quella di citochine anti-infiammatorie (IL-10 ed antagonista del recettore per IL-1), in parallelo con l'attivazione dei macrofagi e della risposta T-helper di tipo 1 (7). Una meta-analisi ha dimostrato una riduzione del 18% nel rischio di infarto al miocardio in pazienti con artrite reumatoide trattati con metotrexato (8). Su queste basi, lo studio CIRT (9) ha arruolato 4.786 pazienti con precedente sindrome coronarica acuta e diabete mellito, sindrome metabolica o entrambi e li ha randomizzati a ricevere placebo o metotrexato a basso dosaggio (15-20 mg) una volta alla settimana. L'*endpoint*

primario era rappresentato dalla prima occorrenza di MACE, definito come un composito di infarto al miocardio non fatale, ictus non fatale o morte per cause cardiovascolari. Durante il follow-up (mediana 2,3 anni), il metotrexato non ha ridotto significativamente i livelli di IL-1 $\beta$ , IL-6 o hs-CRP rispetto al placebo, né il rischio di *endpoint* primario (HR, 1,01; IC 95%, 0,82-1,25; p=0,91) o secondario (composito di MACE e angina instabile che richiedeva rivascolarizzazione non precedentemente programmata) (HR, 0,96; IC 95%, da 0,79 a 1,15; p = 0,67).

Due aspetti importanti possono contribuire a fornire una spiegazione per l'incongruenza tra gli studi CIRT e CANTOS. In primo luogo, lo studio CIRT non richiedeva un elevato valore basale di hs-CRP ed infatti il valore mediano all'arruolamento è risultato pari a 1,5 mg/L, contrariamente allo studio CANTOS in cui la mediana di hs-CRP basale è risultata di 4,3 mg/L. Questo suggerisce che pazienti con stato infiammatorio elevato al momento dell'arruolamento potrebbero beneficiare maggiormente della terapia antinfiammatoria.

Un altro aspetto è legato ai meccanismi molecolari responsabili della risposta antinfiammatoria; da un lato canakinumab ha come target IL-1 $\beta$  e la cascata controllata da IL-1 $\beta$ , comprese IL-6 e hs-CRP. I pazienti in cui è stata maggiore la riduzione dei marcatori di infiammazione sono quelli in cui è stata osservata una maggiore riduzione di MACE. Viceversa, i pazienti dello studio CIRT trattati con metotrexato non hanno mostrato una riduzione significativa dei livelli di hs-CRP, IL-1 $\beta$  o IL-6. Resta da investigare se la mancanza di effetto antinfiammatorio sia associato alla condizione non particolarmente infiammata dei pazienti reclutati nello studio oppure al meccanismo d'azione più ampio del farmaco.

Colchicina è un farmaco antinfiammatorio somministrato per via orale ed è utiliz-

zato per trattare gotta, pericardite e febbre mediterranea familiare. Nel corso degli anni, pazienti trattati con colchicina hanno mostrato un miglioramento del quadro cardiovascolare, suggerendo un possibile utilizzo di questo farmaco nei pazienti con aterosclerosi. Accanto al suo meccanismo d'azione principale (inibizione della funzionalità dei microtubuli), la colchicina può essere utilizzata nell'ambito di malattia aterosclerotica grazie alla sua capacità di attenuare l'attivazione dell'inflammasoma indotta dai cristalli di colesterolo (10). Contemporaneamente stanno emergendo prove anche a sostegno di un effetto legato alla stabilizzazione della placca aterosclerotica (11). L'effetto di colchicina sulla malattia cardiovascolare è stato recentemente valutato sia in pazienti con recente infarto al miocardio (studio COLCOT) che in pazienti con malattia cardiovascolare cronica (studio LoDOC02).

Lo studio COLCOT (12) ha arruolato 4.775 pazienti che avevano avuto un infarto entro i 30 giorni precedenti, randomizzati a ricevere colchicina (0.5 mg al giorno) o placebo. L'*endpoint* primario era rappresentato da un composito di morte per cause cardiovascolari, rianimazione dopo arresto cardiaco, infarto al miocardio, ictus, ospedalizzazione per angina con rivascolarizzazione coronarica. I pazienti sono stati seguiti per 22,6 mesi (mediana) e l'*endpoint* primario è stato osservato nel 5,5% del gruppo trattato con colchicina rispetto al 7,1% del gruppo placebo (HR, 0,77; IC 95%, 0,46-0,96; p=0,02). Uno degli effetti collaterali più comuni, la diarrea, è stata osservata nel 9,7% dei pazienti con colchicina rispetto al 8,9% dei pazienti del gruppo placebo (P=0,35). Tra gli eventi avversi seri, la presenza di polmonite è stata riscontrata nello 0,9% del gruppo di pazienti trattati con colchicina rispetto allo 0,4% del gruppo placebo (P=0,03).

Lo studio LoDoCo2 (13) ha arruolato 5.522 pazienti con malattia cardiovascolare cronica e che sono stati randomizzati a ricevere colchicina (0,5 mg al giorno) o placebo. L'endpoint primario era rappresentato da un composito di morte per cause cardiovascolari, infarto al miocardio, ictus ischemico, rivascolarizzazione coronarica dovuta ad ischemia. I pazienti sono stati seguiti per 28,6 mesi (mediana) e l'endpoint primario è stato osservato nel 6,8% del gruppo trattato con colchicina rispetto al 9,6% del gruppo placebo (HR, 0,69; IC 95%, 0,57-0,83;  $P < 0,001$ ). L'incidenza di infarto al miocardio, della rivascolarizzazione coronarica dovuta ad ischemia, di morte per cause cardiovascolari è risultata significativamente ridotta nel gruppo trattato con colchicina rispetto al placebo. Viceversa, l'incidenza di morte per cause non cardiovascolari è risultata significativamente più alta nel gruppo trattato con colchicina.

Il sottostudio di proteomica ha confrontato il siero prima e 30 giorni dopo il trattamento con colchicina e ha mostrato che, oltre a ridurre le citochine correlate a NLRP3 (IL-18, antagonista del recettore IL-1, IL-6), colchicina ha anche portato ad un'importante riduzione di diverse proteine non direttamente coinvolte in questo *pathway* molecolare (14). La riduzione più rilevante è stata osservata per proteine rilasciate dai neutrofili in seguito a degranulazione, quali mieloblastina e mieloperossidasi; tale riduzione potrebbe essere associata ad un miglioramento della malattia aterogena. Molto interessante è anche l'osservazione che proteine con attività anti-aterosclerotica, quali il fattore di crescita dei fibroblasti e *insulin-like growth factor-binding protein 1*, hanno mostrato un significativo aumento nel gruppo di pazienti trattati con colchicina (14).

Uno studio osservazionale non randomizzato su 80 pazienti con recente sindro-

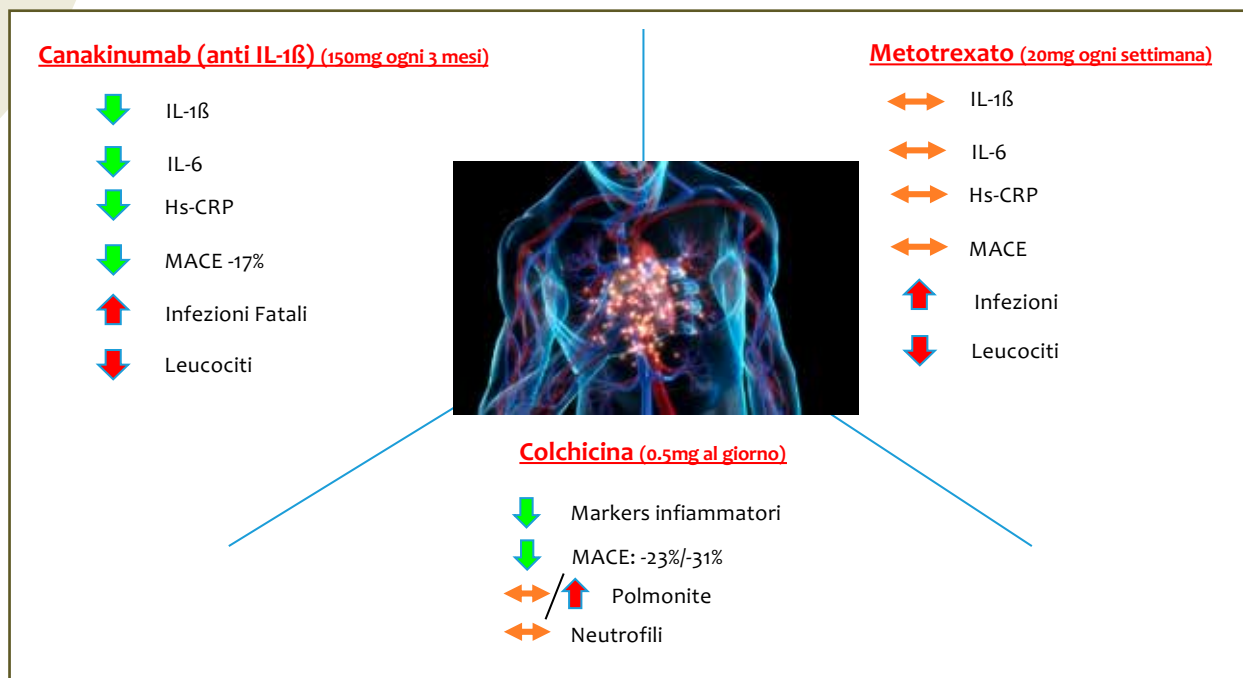
me coronarica acuta ha dimostrato anche che a basso dosaggio la colchicina riduce significativamente il volume della placca a bassa attenuazione, valutata attraverso angiografia coronarica con tomografia computerizzata (CTA) (15). Questa osservazione è stata accompagnata da una significativa riduzione di hs-CRP nel gruppo trattato e supporta l'ipotesi che colchicina possa contribuire a stabilizzare la placca aterosclerotica.

La propensione della colchicina a provocare disturbi gastrointestinali fino al 15-20% dei pazienti (16) e l'aumento del rischio di polmonite osservato nello studio COLCOT (0,9% rispetto a 0,4% nel gruppo placebo;  $p = 0,03$ ) (12) rappresentano sicuramente dei limiti (non insormontabili) al suo utilizzo nella pratica clinica. Tuttavia, l'aumento della mortalità totale per cause non cardiovascolari nel gruppo trattato con colchicina nello studio LoDoCo2 suggerisce che sono necessari altri studi per comprendere meglio la finestra terapeutica (13).

I risultati degli studi in corso (COACS, CLEAR-SYNERGY), che stanno arruolando principalmente pazienti con malattia coronarica instabile, saranno cruciali per chiarire ulteriormente sicurezza ed efficacia di colchicina in ambito cardiovascolare.

## Conclusioni

Studi *in vitro*, in modelli sperimentali e nell'uomo hanno ampiamente mostrato come l'attivazione della risposta immuno-infiammatoria svolga un ruolo fondamentale nella progressione della patologia aterosclerotica. Parallelamente, controllare la risposta infiammatoria attraverso diversi approcci farmacologici è risultato sicuramente di successo in una serie di modelli preclinici di aterosclerosi. Tuttavia, la capacità di traslare queste conoscenze per migliorare la terapia dell'aterosclerosi ri-



**Figura 1** - Effetti principali di farmaci antinfiammatori ed immunosoppressori sull'*outcome* cardiovascolare (MACE), marker infiammatori ed immunitari valutati attraverso trial clinici di FASE III in pazienti con malattia aterosclerotica stabile o acuta.

mane ancora oggi limitata e solamente tre farmaci, canakinumab (anticorpo monoclonale diretto verso IL-1 $\beta$ ), metotrexato e colchicina sono stati valutati in studi randomizzati di fase III che hanno arruolato migliaia di pazienti e valutato un *endpoint* cardiovascolare (Figura 1). Mentre metotrexato a basso dosaggio non ha mostrato benefici sull'incidenza di eventi cardiovascolari, canakinumab e colchicina hanno ridotto l'incidenza di eventi cardiovascolari maggiori rispetto al placebo. Tutte e tre le molecole, tuttavia, sono state associate ad un aumento delle infezioni o comunque ad un cambiamento nel quadro della risposta immunitaria, come d'altronde atteso in base al meccanismo d'azione. La possibilità di bilanciare gli effetti positivi sul quadro cardiovascolare rispetto ad una miglior efficienza della risposta immunitaria, per esempio nei confronti delle in-

fezioni, sarà cruciale per identificare meglio i pazienti che potrebbero beneficiare di approcci volti a ridurre la risposta infiammatoria in ambito di patologie aterosclerotiche.

## Referenze

1. Libby P. Interleukin-1 Beta as a Target for Atherosclerosis Therapy: Biological Basis of CANTOS and Beyond. *Journal of the American College of Cardiology*. 2017; 70: 2278-2289.
2. Loppnow H and Libby P. Adult human vascular endothelial cells express the IL6 gene differentially in response to LPS or IL1. *Cell Immunol*. 1989; 122: 493-503.
3. Ridker PM, Everett BM, Thuren T, et al. Anti-inflammatory Therapy with Canakinumab for Atherosclerotic Disease. *N Engl J Med*. 2017; 377: 1119-1131.
4. Ridker PM, MacFadyen JG, Everett BM, et al.; Group CT. Relationship of C-reactive protein reduction to cardiovascular event reduction following treatment with canakinumab: a secondary

- analysis from the CANTOS randomised controlled trial. *Lancet*. 2018; 391: 319-328.
5. Ridker PM, Libby P, MacFadyen JG, et al. Modulation of the interleukin-6 signalling pathway and incidence rates of atherosclerotic events and all-cause mortality: analyses from the Canakinumab Anti-Inflammatory Thrombosis Outcomes Study (CANTOS). *Eur Heart J*. 2018; 39: 3499-3507
  6. Ridker PM, MacFadyen JG, Thuren T, et al.; Group CT. Effect of interleukin-1beta inhibition with canakinumab on incident lung cancer in patients with atherosclerosis: exploratory results from a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet*. 2017; 390: 1833-1842.
  7. Cutolo M, Sulli A, Pizzorni C, et al. Anti-inflammatory mechanisms of methotrexate in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2001; 60: 729-735.
  8. Micha R, Imamura F, Wylers von Ballmoos M, et al. Systematic review and meta-analysis of methotrexate use and risk of cardiovascular disease. *The American journal of cardiology*. 2011; 108: 1362-1370.
  9. Ridker PM, Everett BM, Pradhan A, et al. Low-Dose Methotrexate for the Prevention of Atherosclerotic Events. *N Engl J Med*. 2019; 380: 752-762.
  10. Karasawa T, Takahashi M. The crystal-induced activation of NLRP3 inflammasomes in atherosclerosis. *Inflamm Regen*. 2017; 37: 18.
  11. Fernando S, Schwarz N, Williamson A, et al. Anti-inflammatory effects of colchicine on oxidised low-density lipoproteins and cholesterol crystal-induced macrophage activation in vitro. *Heart, Lung and Circulation*. 2017; 26: S69-S70.
  12. Tardif JC, Kouz S, Waters DD, et al. Efficacy and Safety of Low-Dose Colchicine after Myocardial Infarction. *N Engl J Med*. 2019; 381: 2497-2505.
  13. Nidorf SM, Fiolet ATL, Mosterd A, et al. Colchicine in Patients with Chronic Coronary Disease. *N Engl J Med*. 2020; 383: 1838-1847.
  14. Opstal TSJ, Hoogeveen RM, Fiolet ATL, et al. Colchicine attenuates inflammation beyond the inflammasome in chronic coronary artery disease: A LoDoCo2 proteomic substudy. *Circulation*. 2020; 142: 1996-1998.
  15. Vaidya K, Arnott C, Martinez GJ, et al. Colchicine Therapy and Plaque Stabilization in Patients With Acute Coronary Syndrome: A CT Coronary Angiography Study. *JACC Cardiovascular imaging*. 2018; 11: 305-316.
  16. Slobodnick A, Shah B, Krasnokutsky S, Pillinger MH. Update on colchicine, 2017. *Rheumatology*. 2018; 57: i4-i11.