



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI GENOVA

DIPARTIMENTO DI SCIENZE DELLA SALUTE

Tesi di Dottorato in Scienze della Salute

Curriculum Biostatistica

Ciclo XXXIII

Rituximab in Sclerosi Multipla e Neuromielite ottica

Dottoranda: Ilaria Maietta

Relatore: Prof.ssa Maria Pia Sormani

Abstract

Progetto di dottorato

La Sclerosi Multipla è definita come una malattia complessa, causata dall'interazione di molti fattori eziologici, clinici, genetici ed ambientali. Ad oggi, in letteratura, gli studi osservazionali che possano offrire un quadro chiaro del beneficio a lungo termine che l'introduzione di terapie farmacologiche ha apportato nel curare questa patologia, hanno dato risultati contrastanti. Nel Centro Regionale per la Sclerosi Multipla Spedali Civili di Brescia - Presidio di Montichiari (BS) sono state raccolte ed inserite in un database (DB) informazioni sulla storia di malattia di 1034 pazienti. In particolare, prima del 1985 un arruolamento retrospettivo dei pazienti è stato eseguito, mentre dopo il 1985 è stata attuata una raccolta sistematica dei dati.

Scopo del progetto era monitorare l'evoluzione clinica della malattia confrontando i dati relativi alle terapie farmacologiche disponibili in Italia. Durante l'analisi statistica di questi dati verranno anche tenuti in considerazione i principali fattori clinici legati allo sviluppo e alla progressione della Sclerosi Multipla, permettendo così una valutazione clinica dei risultati ottenuti.

In quest'ottica il progetto della mia ricerca si è strutturato in maniera specifica prendendo in esame un farmaco off-label, Rituximab largamente utilizzato sia per la Sclerosi Multipla che per la Neuromielite Ottica.

Il progetto si è trasformato nella creazione di due database di pazienti (uno per la SM ed uno per la NMO) in trattamento con Rituximab nei vari centri italiani, per

avere informazioni su safety e efficacy del farmaco su una coorte consistente di pazienti.

I database sono stati gestiti dalla sezione di Biostatistica dell'Università degli Studi di Genova (Prof.ssa Sormani), Centro Coordinatore dello studio. Ogni centro rimane proprietario dei propri dati e avevano la possibilità di aderire ad altre analisi proposte dai membri del gruppo e richiedere un'analisi specifica dei dati del proprio centro.

Il nostro è stato uno studio osservazionale retrospettivo non interventistico, con una estensione prospettica della durata di 2 anni.

Ringraziamenti

Volevo ringraziare tutto il Dipartimento di Scienze della Salute dell'Università di Genova ed in particolare la sezione di Biostatistica per il supporto che mi hanno dato durante i tre anni di studio.

Il mio percorso partiva da lontano, Laurea in Lingue e Letterature Straniere, ma le lacune che avevo in campo scientifico sono state colmate grazie alla disponibilità dei colleghi, dottorandi e assegnisti che ho incontrato e dai professori che mi hanno guidato.

Un ringraziamento speciale alla Prof.ssa Maria Pia Sormani che è stata la prima a credere nella possibilità che io potessi portare a termine questo progetto.

Spero di aver ricambiato tale fiducia.

Ovviamente una menzione speciale va' alla mia famiglia, grazie!

INDICE

1 - Introduzione	1
2 - La Sclerosi Multipla	3
2.1. Sintomatologia e Diagnosi	4
2.2. Decorso	5
2.2.1 Ricaduta	5
2.2.2 Scale di valutazione clinica - EDSS	5
2.3 Diagnosi	7
2.3.1 MRI	7
2.3.2 Sostanza Bianca	8
2.3.3 Lesioni corticali	9
2.3.4 MSFC	9
2.3.5 Time 25 foot walk	10
2.3.6 9-Hole Peg Test (9HPT)	10
2.3.7 Paced Auditory Serial Addition Test	10
2.3.8 Altre misure per valutare l'attività e la progressione della malattia	11
2.4. Terapia	12
3 - La Neuromielite Ottica	13
3.1. Diagnosi	14
3.2. Terapia	15
4 - Rituximab	16

5 - Il progetto	17
5.1. CRF	17
5.2. Database Sclerosi Multipla	23
5.3. Database Neuromielite Ottica	24
5.4. Regime di trattamento: induzione e mantenimento	25
6 - Outcome	27
6.1. Risultati Sclerosi Multipla	28
6.2. Risultati Neuromielite Ottica	32
7 – Safety	39
8 - Analisi statistica	41
Conclusioni	42
Appendice A - Criteri di McDonald	47
Riepilogo Tabelle e Riepilogo Figure	48
Abbreviazioni e acronimi	50
Allegato A - Pubblicazioni	51
Bibliografia	52

1- Introduzione

Rituximab è un anticorpo monoclonale chimerico diretto contro il recettore di superficie CD20 che determina la distruzione dei linfociti B, cellule del sistema immunitario che producono gli anticorpi. Esse rivestono un ruolo fondamentale nell'attacco del sistema immunitario al cervello e al midollo spinale nella Sclerosi Multipla (SM), attraverso l'attivazione di diversi meccanismi.¹

Rituximab, inoltre, è una terapia emergente anche nel trattamento della neuromielite ottica (NMO), dal dicembre 2017 AIFA ne ha autorizzato l'inserimento nella lista dei farmaci a carico di SSN.

Rituximab è stato valutato nei pazienti con SM recidivante-remittente in uno studio randomizzato di fase II pubblicato nel 2008², mostrando un'eccezionale efficacia nel ridurre l'attività di malattia misurata alla Risonanza Magnetica (RM) rispetto al placebo. Nel 2011 un secondo studio ha mostrato una superiorità (non significativa) di Rituximab rispetto a placebo anche in pazienti in fase progressiva di malattia¹, nonostante lo studio non avesse la potenza sufficiente.

Rituximab è stato approvato dalla Food and Drug Administration (FDA) americana nel 1997 per i pazienti affetti da linfoma non Hodgkin, il brevetto è scaduto nel 2015, e sono ora disponibili farmaci generici. Tuttavia, la sperimentazione su Rituximab per il trattamento della SM si è fermata, a vantaggio di un farmaco nuovo, Ocrelizumab, un anticorpo monoclonale analogo di Rituximab ma umanizzato. Due trial di fase III hanno dimostrato un'efficacia di Ocrelizumab superiore a Interferon-beta sulle ricadute nei pazienti con SM recidivante-remittente³ ed uno studio ha dimostrato l'efficacia di Ocrelizumab vs Placebo anche nei pazienti progressivi (PP)⁴.

Gli studi clinici su Ocrelizumab hanno coinvolto oltre 800 pazienti, mentre quelli trattati con Rituximab erano un centinaio. È lecito pensare che se lo studio avesse coinvolto un numero maggiore di pazienti, partendo dai dati ottenuti ², avremmo visto un effetto maggiore anche per quanto riguarda Rituximab.

Ocrelizumab è stato approvato a gennaio 2018 da EMA (Agenzia Europea del Farmaco) e, a partire da settembre dello stesso anno, è rimborsato dal Sistema sanitario nazionale.

Fino al 2018 molti clinici hanno utilizzato Rituximab off-label per il trattamento della Sclerosi Multipla, primi fra tutti gli svedesi che hanno pubblicato uno studio

osservazionale, singolo braccio su 800 pazienti con SM trattati con Rituximab ⁵. I risultati indicano una bassissima attività di malattia in tali pazienti.

Il nostro scopo è quindi dimostrare l'efficacia e la sicurezza del farmaco attraverso uno studio multicentrico con dati provenienti da alcuni centri italiani ed uno svizzero, che trattano la SM e la NMO con Rituximab.

2 - La Sclerosi Multipla

La Sclerosi Multipla (SM) è una malattia autoimmune cronica che attacca il sistema nervoso centrale (SNC), costituito da cervello, midollo spinale e nervi ottici. L'attacco immunitario al sistema nervoso centrale provoca il danneggiamento di una sostanza, chiamata mielina, che circonda e protegge le fibre nervose del sistema nervoso centrale.

Il processo di danneggiamento della mielina, chiamato demielinizzazione, forma il tessuto cicatriziale (sclerosi), che dà il nome alla malattia.

La demielinizzazione provoca un abbattimento della barriera ematoencefalica (BBB) con conseguenti problemi di comunicazione tra cellule cerebrali e midollo spinale. Infatti, quando una qualsiasi parte della guaina mielinica o delle fibre nervose viene danneggiata o completamente distrutta, gli impulsi nervosi che viaggiano da e verso il cervello e il midollo spinale vengono distorti o interrotti e può verificarsi una grande varietà di sintomi.

I sintomi più frequenti sono affaticamento, intorpidimento del viso, del corpo o delle estremità (braccia e gambe), problemi di vista, perdita di equilibrio e coordinazione con problemi di deambulazione associati e altri.

Poiché questi sintomi sono molto generali e variano a seconda di dove si è verificato il danno cerebrale, spesso ci vogliono molti anni prima che venga diagnosticata la SM e una volta che la diagnosi è confermata, tuttavia è molto difficile prevedere la progressione della malattia per ogni paziente.

È stato stimato che le persone affette da SM in Italia siano 122.000 per un totale di 3.400 nuovi casi ogni annoⁱ.

La malattia è più frequente tra le donne con un rapporto stimato di 2:1 rispetto ai maschi e generalmente la diagnosi si manifesta tra i 20 ei 40 anni di età.

2.1 Sintomatologia e Diagnosi

Le persone con sclerosi multipla presentano differenti sintomi in base alla diversa possibile localizzazione delle lesioni nel sistema nervoso centrale. La frequenza dei

ⁱ Barometro della Sclerosi Multipla 2019 redatto da AISM

sintomi può aumentare in genere con la gravità e la durata della malattia anche se, in alcuni casi, non vi sono chiare correlazioni.

Un primo episodio neurologico, denominato sindrome clinicamente isolata (CIS), della durata di almeno 24 ore e causato da infiammazione / demielinizzazione in una o più sedi (monofocali/multifocali) del sistema nervoso centrale, potrebbe rappresentare il primo passo per una successiva conferma di diagnosi di SM. Infatti, non tutti i pazienti che soffrono di CIS continuano necessariamente a sviluppare la SM e questo dipende dalla somiglianza delle lesioni rilevate con quelle normalmente osservate nella SM.

Per confermare successivamente la diagnosi di SM, sono stati sviluppati una serie di criteri, criteri di McDonald, nel 2001⁶ e aggiornati nel 2017⁷.

Per completezza si rimanda all'appendice A che presenta una sintesi esplicativa di tali criteri che si basano sul numero di lesioni e attacchi (recidive) osservati nei pazienti, sugli esiti della Risonanza magnetica e infine sull' esame liquor (se necessario).

Una volta confermata clinicamente, la SM ha un'evoluzione nel tempo molto variabile da un paziente all'altro, è possibile identificare quattro diverse forme di decorso clinico. Tra tutti i pazienti circa l'85% di essi inizia con una forma recidivante-remittente (RRMS) in cui si alternano periodi ben definiti (che durano da pochi giorni a settimane) di sintomi neurologici, detti recidive, caratterizzati da attacchi acuti e peggioramento dei sintomi, e periodi prolungati di remissione in cui si verifica un recupero della ricaduta.

Dopo un numero variabile di anni, i pazienti con diagnosi di RRMS progrediscono nella forma Secondaria Progressiva (SPMS), dove le recidive e le remissioni sono sostituite da un pattern di peggioramento graduale dovuto all'accumulo di danno neurologico irreversibile.

In circa il 15% dei casi, la SM si presenta nella cosiddetta forma progressiva primaria (PPMS) in cui i pazienti mostrano un progressivo deterioramento neurologico fin dall'inizio e non soffrono di ricadute e remissioni.

Le forme recidive progressive (PRMS) rappresentano invece il tipo meno comune di SM in cui i pazienti sperimentano una progressione della malattia dall'inizio ma con la possibilità di sperimentare anche recidive occasionali.

2.2 Decorso

È impossibile predire con esattezza il decorso che la SM avrà nel singolo soggetto colpito, per questo motivo è fondamentale monitorare la progressione clinica e l'attività di malattia.

2.2.1 Ricaduta

Ricaduta: è un episodio clinico caratterizzato dalla comparsa di nuovi sintomi neurologici o da una riattivazione di deficit neurologici preesistenti, dura almeno 24 ore, con o senza ricovero, in assenza di febbre o infezioni, e si verifica ad un mese dalla precedente ricaduta⁸. (Figura 6, pag 27)

Diversi farmaci sono stati approvati per il trattamento della RR SM sulla base della riduzione del numero totale di recidive verificatesi in un periodo di tempo fisso⁹⁻¹⁴.

La numerosità delle recidive è nota come tasso di ricaduta ed è generalmente espressa come tasso di ricaduta annualizzato (ARR). L'ARR rappresenta spesso l'outcome primario nella fase III degli studi clinici progettati per valutare l'efficacia di nuovi farmaci.

Negli studi clinici che coinvolgono pazienti CIS l'endpoint primario standard, invece, è generalmente rappresentato dal momento in cui si verifica la prima ricaduta per ciascun paziente. Questo risultato primario può essere espresso come tempo alla prima ricaduta (TTFR).

2.2.2 EDSS

Un altro outcome primario utilizzato negli studi di fase III è il livello di disabilità dei pazienti con SM. La disabilità o le variazioni di questa nel tempo sono generalmente monitorate per mezzo di uno strumento standard rappresentato dalla Expanded Disability Status Scale (EDSS)¹⁵.

Come mostra la Tabella 1 EDSS è una scala che va da 0 a 10 con incrementi di 0,5 con punteggi più alti corrispondenti ad un maggior livello di disabilità del paziente. In particolare, i passaggi da 1.0 a 4.5 dell'EDSS si riferiscono a persone con SM che sono completamente deambulanti mentre i passaggi da 5.0 a 9.5 sono definiti dalla compromissione della deambulazione.

EDSS è ampiamente utilizzato come risultato negli studi clinici ma presenta alcuni limiti. Il primo è che dipende fortemente dalle funzioni locomotorie mentre sembra essere meno sensibile alle disfunzioni neurologiche e cognitive, disturbi talvolta molto invalidanti.

Altro limite è che l'EDSS non è una scala continua ma assume valori ordinali con passi di 0,5 e, di conseguenza, è stato osservato che è più suscettibile ai salti lungo la scala e meno al declino o ad un miglioramento graduale. Inoltre, proprio per questa sua caratteristica, la differenza tra un punteggio e il successivo ha significati differenti in base ai differenti livelli di EDSS.

Infine, EDSS è un parametro che viene valutato dal medico che ha in cura il paziente e quindi suscettibile alla soggettività dell'operatore che esamina il paziente.

Tabella 1 - Expanded Disability Status Scale

Punteggio EDSS	Caratteristiche cliniche
1-3,5	Paziente deambulante, ma sono presenti deficit neurologici evidenti in diversi sistemi funzionali (motorio, sensitivo, cerebellare, visivo, sfinterico) di grado lieve-moderato, con un impatto parziale sull'autonomia.
4	Paziente autonomo, deambulante senza aiuto e senza riposo, per circa 500 metri.
4,5	Paziente autonomo, con minime limitazioni dell'attività quotidiana. Deambulazione possibile, senza soste e senza riposo, per circa 300 metri.
5	Paziente non del tutto autonomo, con modeste limitazioni dell'attività completa quotidiana. Deambulazione possibile, senza soste e senza riposo, per circa 200 metri.
5,5	Paziente non del tutto autonomo, con evidenti limitazioni dell'attività quotidiana. Deambulazione possibile, senza soste e senza riposo, per circa 100 metri.
6	Paziente che necessita di assistenza saltuaria o costante da un lato per percorrere 100 metri senza fermarsi.
6,5	Paziente che necessita di assistenza bilaterale costante, per camminare 20 metri senza fermarsi.
7	Paziente non in grado di camminare per più di 5 metri, anche con aiuto, e necessita di sedia a rotelle, riuscendo però a spostarsi dalla stessa da solo.
7,5	Paziente che può muovere solo qualche passo. È obbligato all'uso della carrozzella, e può aver bisogno di aiuto per trasferirsi dalla stessa.
8	Paziente che è obbligato a letto non per tutta la giornata o sulla carrozzella. In genere, usa bene una o entrambe le braccia.
8,5	Paziente essenzialmente obbligato a letto. Mantiene alcune funzioni di auto assistenza, con l'uso abbastanza buono di una o entrambe le braccia.
9	Paziente obbligato a letto e dipendente. Può solo comunicare e viene alimentato.
9,5	Paziente obbligato a letto, totalmente dipendente.
10	Morte dovuta alla malattia.

2.3 Diagnosi

Fino agli anni Ottanta diagnosticare la SM non era facile. Al momento non è disponibile un singolo test per confermare la diagnosi di SM, la certezza si ottiene confrontando fra loro i risultati di diversi elementi: la valutazione clinica del neurologo, la risonanza magnetica (RM) encefalica e spinale, l'analisi del liquor cerebrospinale (il liquido che riveste il sistema nervoso centrale e che scorre nelle cavità e attorno al cervello e al midollo spinale) e le indagini elettrofisiologiche (potenziali evocati). Queste ultime individuano i disturbi della "conduzione elettrica" lungo le vie nervose. La RM, invece, permette di "leggere" il cervello ed è fondamentale per individuare la presenza delle "placche" tipiche della SM, distinguendo, inoltre, la fase acuta dell'infiammazione dalla cicatrice vera e propria che si formerà successivamente.

2.3.1 MRI

La risonanza magnetica è una tecnica di imaging medico che è emersa come un importante strumento clinico per diagnosticare e monitorare la progressione del processo patologico. La risonanza magnetica ha dimostrato di avere una maggiore sensibilità all'attività della malattia e di essere più strettamente associata ai risultati istopatologici rispetto ai risultati clinici.

Mediante immagini di alta qualità di tutte le aree del cervello, la risonanza magnetica può identificare anomalie in circa il 95% dei pazienti con SM clinicamente confermata. In particolare, è possibile rilevare una o più lesioni nel tessuto cerebrale e, ripetendo le scansioni MRI ad intervalli di tempo consecutivi, è possibile studiare l'evoluzione delle lesioni e, di conseguenza, la progressione della malattia.

I criteri di McDonald⁶⁻⁷ per la conferma della SM precedentemente citati sono strettamente basati sui risultati ottenuti nelle sequenze MRI e in particolare sul numero di lesioni rilevate.

In conclusione, la risonanza magnetica ha quindi alcune caratteristiche importanti rispetto ad altri outcome: si basa sul numero di lesioni attive e per questo motivo è continua e non ordinale (come EDSS) e, non meno importante, è basata su una misurazione oggettiva e non soggettiva, come invece EDSS.

2.3.2 Sostanza Bianca

La materia bianca (WM) è una delle due parti del cervello ed è composta principalmente da nervi.

Le lesioni nella WM possono essere rilevate utilizzando diverse sequenze MRI e, a seconda di ciò, è possibile visualizzare vari aspetti patologici della SM.

Le scansioni MRI pesate in T2 mostrano il numero totale di lesioni (indicate come lesioni T2) e il carico di malattia. Le lesioni appaiono come punti luminosi e iperintensi rispetto al tessuto cerebrale circostante. Pertanto, i cambiamenti del segnale pesati in T2 sono molto sensibili per l'attività della malattia ma sono patologicamente a-specifici poiché tutte le possibili cause di lesioni (infiammazione, edema, demielinizzazione) hanno lo stesso aspetto in questa sequenza MRI. In parte per questo motivo è stata osservata una scarsa relazione tra il numero di lesioni T2 e la disabilità clinica (paradosso clinico-radiologico).

Un'altra tipologia di scansioni MRI è quella pesata in T1 con *Gadolinio* che rivela nuove lesioni e quindi riflette le aree in cui la malattia è attualmente attiva. Ciò si verifica perché l'apertura del BEE, uno dei primi eventi nello sviluppo di una lesione da SM, causa la fuoriuscita dell'agente di potenziamento del contrasto *Gadolinio* (Gd) nel tessuto cerebrale circostante che appare come anomalie iperintense sulle scansioni pesate in T1.

Le scansioni MRI mensili risultano 10 volte più sensibili nel rilevare l'attività della SM rispetto alle ricadute cliniche e alle misure di disabilità ¹⁶.

Pertanto, le lesioni MRI sono diventate una preziosa misura di esito negli studi clinici che monitorano gli effetti degli agenti antinfiammatori.

2.3.3 Lesioni corticali

L'altra parte del cervello è la materia grigia (GM) che ha un colore grigio-rosato nel cervello vivente e contiene i corpi cellulari, i dendriti e i terminali degli assoni dei neuroni e quindi è dove si trovano tutte le sinapsi.

La SM è stata classicamente considerata una malattia della WM ma, tuttavia, recenti studi istopatologici¹⁷⁻¹⁸ hanno dimostrato che anche le regioni della materia grigia sono fortemente colpite, specialmente nella corteccia cerebrale.

Sembra che il danno e l'atrofia della materia grigia insorgano precocemente nella malattia e si evolvano più velocemente dell'atrofia della sostanza bianca, influenzando sostanzialmente il funzionamento clinico e cognitivo.

Mediante specifiche sequenze RM, sono stati osservati diversi tipi di lesioni nella materia grigia e in particolare nella corteccia cerebrale; in quest'ultimo caso sono state chiamate lesioni corticali (CL) ¹⁷⁻²¹.

Questi studi hanno mostrato chiaramente la rilevanza clinica delle CL ¹⁹⁻²¹, suggerendo che potrebbero diventare presto un risultato valido negli studi sulla SM, in aggiunta alle lesioni della WM nella valutazione dell'attività della malattia e della risposta alla terapia.

2.3.4 MSFC

La Sclerosi Multipla Functional Composite (MSFC) è un outcome clinico multidimensionale. Ci sono tre componenti per l'MSFC²²:

- (1) i punteggi medi delle quattro prove sul test del piolo a 9 buche;
- (2) i punteggi medi di due prove di camminata a tempo di 25 piedi;
- (3) il numero corretto dal test di aggiunta seriale uditiva stimolata.

L'MSFC si basa sul concetto che i punteggi per queste tre dimensioni: braccio, gamba e funzione cognitiva vengono combinati per creare un singolo punteggio che può essere utilizzato per rilevare i cambiamenti nel tempo in un gruppo di pazienti con SM. Questo viene fatto creando punteggi Z per ogni componente dell'MSFC e calcolandone la media per creare un punteggio composito complessivo noto come punteggio MSFC. Implicita in questo approccio è l'idea che i pazienti che peggiorano o migliorano su tutte e tre le misure componenti avranno un cambiamento complessivo più ampio rispetto ai pazienti che cambiano solo su una delle tre misure. Inoltre, i pazienti che si deteriorano in un'area ma migliorano in un'altra potrebbero non mostrare alcun cambiamento sull'MSFC, perché l'MSFC rappresenta la variazione media nei tre test.

2.3.5 Time 25-foot walk

Il Timed 25-Foot Walk (T25FW) è una misura quantitativa della funzione degli arti inferiori. È il primo componente di MSFC somministrato ad ogni visita, consiste nella misurazione del tempo necessario a percorrere a passo veloce, ma senza correre, una distanza di 8 metri (25 piedi) per 2 volte (andata e ritorno). I pazienti possono utilizzare dispositivi di assistenza quando svolgono questa attività. Negli studi clinici, si raccomanda al neurologo curante di selezionare il dispositivo di assistenza appropriato per ciascun paziente.

2.3.6 9-Hole Peg Test (9HPT)

9-Hole Peg Test (9HPT) è una misura quantitativa della funzione degli arti superiori (braccio e mano). Il suo utilizzo con i pazienti con SM è stato segnalato per la prima volta da Goodkin, Hertsgaard e Seminary nel 1988 ²³ e ha visto un uso crescente negli studi clinici e nella pratica clinica della SM negli ultimi dieci anni. Il 9-HPT è il secondo componente della MSFC da somministrare. Consiste nel valutare il tempo necessario ad inserire e successivamente togliere, uno alla volta e il più velocemente possibile, 9 pioli in altrettanti fori di una tavoletta.

Entrambe le mani, dominante e non dominante, vengono testate due volte (due prove consecutive della mano dominante, seguite immediatamente da due prove consecutive della mano non dominante). È importante che il 9-HPT venga somministrato su un tavolo solido (non un comodino da ospedale mobile) e che l'apparato 9-HPT sia ancorato.

2.3.7 Paced Auditory Serial Addition Test

Il PASAT (Paced Auditory Serial Addition Test) è una misura della funzione cognitiva che valuta in modo specifico la velocità e la flessibilità di elaborazione delle informazioni uditive, nonché la capacità di calcolo. È stato inizialmente sviluppato da Gronwall nel 1977 ¹⁵ per monitorare il recupero dei pazienti che avevano subito lievi lesioni alla testa. I tassi di presentazione dello stimolo sono stati adattati per l'uso con i pazienti con SM da Rao e colleghi nel 1989 ²⁴ e la misura è stata ampiamente utilizzata negli studi sulla SM durante l'ultimo decennio. Il PASAT è studiato per

controllare la velocità di presentazione dello stimolo. Le singole cifre vengono presentate ogni 3" e il paziente deve aggiungere ogni nuova cifra a quella immediatamente precedente. Il punteggio del test è il numero di somme corrette fornite (su 60 possibili) in ciascuna prova. Il PASAT è l'ultima misura della MSFC somministrata ad ogni visita.

2.3.8 Altre misure per valutare l'attività e la progressione della SM

L'acuità visiva (VA) è il test più semplice da eseguire e il più importante della funzione visiva.

Il Visual Functional Test (VFT) viene applicato tramite grafici Sloan²⁵, che hanno un formato standardizzato: tre livelli di contrasto sono stati utilizzati negli studi sulla SM e negli studi di ricerca, inclusi il 100% (alto contrasto, utilizzato per misurare VA come descrittore delle coorti di studio), 2,5% e 1,25% (livello di contrasto più chiaro). I grafici vengono valutati lettera per lettera e il numero di lettere identificato correttamente costituisce il punteggio per ogni grafico.

Il riepilogo dei componenti fisici (PCS) ed il riepilogo dei componenti mentali (MCS)²⁶ sono una combinazione lineare delle seguenti otto scale:

1. funzionamento fisico (FP, 10 elementi),
2. ruolo fisico (RP, 4 elementi),
3. dolore corporeo (PA, 2 articoli),
4. salute generale (GH, 5 articoli),
5. vitalità (VT, 4 articoli),
6. funzionamento sociale (SF, 2 articoli),
7. ruolo emotivo (RE, 3 articoli) e
8. salute mentale (MH, 5 articoli).

Tutte le scale vengono valutate in modo che la salute minima abbia un valore di 0 e la salute maggiore abbia un valore di 100.

2.4 Terapia

Al momento non ci sono trattamenti che curano in maniera definitiva la SM. Le strategie terapeutiche hanno l'obiettivo di modificare, o meglio, ritardare la progressione della malattia. Per questa ragione vengono definite DMT (disease modifying treatment).

Durante gli anni '90, diversi DMT furono approvati per forme recidivanti di SM.

Le prove della loro efficacia a lungo termine sono contraddittorie; alcuni studi riportano che una particolare classe di DMT può rallentare (ma non prevenire) la progressione della disabilità e la conversione a SPMS²⁷⁻²⁹, ma altri non riportano alcun effetto sulla progressione di disabilità o sul rischio di sviluppare SPMS³⁰⁻³¹. I risultati di questi studi indicano che i DMT sono, nella migliore delle ipotesi, modestamente efficaci nell'alterare il decorso naturale della malattia della SM³².

Dagli anni 2000 in poi, sono stati sviluppati e approvati diversi "DMT più recenti". Alcuni di questi si sono dimostrati più efficaci nel ridurre la progressione della disabilità, il tasso di ricaduta e / o il carico di lesioni rispetto ai DMT stabiliti negli studi clinici³³⁻³⁸.

Alcuni DMT più recenti, approvati per l'uso clinico, non sono stati soggetti a sperimentazioni head-to-head ma sono stati invece confrontati con placebo^{13,39} o testati in uno studio che è stato impostato per includere un DMT stabilito come braccio di riferimento piuttosto che un comparatore diretto⁴⁰. Ciascuno dei nuovi DMT è associato ad un particolare insieme di benefici e rischi (ad esempio possibili effetti collaterali) e si trova in una classe unica di farmaci. Hanno anche una varietà di meccanismi d'azione (le interazioni biochimiche attraverso le quali i farmaci mediano i loro effetti), formulazioni (modi in cui il farmaco attivo viene combinato con altri ingredienti per realizzare il prodotto finale) e vie di somministrazione (ad esempio, pillole, iniezioni, infusioni).

3 - La Neuromielite Ottica

La malattia di Devic (neuromielite ottica NMO) e le alterazioni comprese nello spettro della NMO sono malattie infiammatorie demielinizzanti del sistema nervoso centrale, caratterizzate da neurite ottica monolaterale e bilaterale (NO) e da mielite acuta. Classicamente, è stata percepita come una malattia monofasica, costituita da episodi di infiammazione di uno o entrambi i nervi ottici e del midollo spinale per un breve periodo di tempo (giorni o settimane) ma, dopo l'episodio iniziale, nessuna recidiva. È ora riconosciuto che la maggior parte dei pazienti che soddisfano i criteri attuali per NMOSD sperimentano attacchi ripetuti separati da periodi di remissione. L'intervallo tra gli attacchi può essere di settimane, mesi o anni. Nelle sue fasi iniziali, NMOSD può essere confusa con la sclerosi multipla (SM).

La NMO è una malattia rara e precisi dati epidemiologici mancano ancora, anche se in questi ultimi anni sono stati condotti grandi studi di coorte: studi del gruppo francese NOMADMUS, studio danese sulla popolazione, studio tedesco di coorte NEMOS, collaborazione inglese e giapponese e collaborazione multicentrica americana.

Si stima che la NMO rappresenti circa l'1% delle malattie demielinizzanti infiammatorie del SNC in Europa, con incidenza di circa 1/100 000 ⁴⁴.

La NMO, come altre malattie demielinizzanti del sistema nervoso centrale, è caratterizzata da una marcata predominanza femminile (da 4:1 a 9:1, a seconda dello studio). L'età media di insorgenza della malattia va dai 30 ai 40 anni, ma sono state segnalate insorgenze pediatriche o molto tardive dopo gli 80 anni. I soggetti non caucasici, come gli afroamericani, gli abitanti delle Antille, gli ispanici o gli asiatici, sembrano, in alcuni studi, più colpiti ⁴⁵.

Sono state descritte alcune forme familiari di NMO, ma non si possono chiaramente legare alla malattia nessuna specifica mutazione genetica e nessun polimorfismo dell'AQP4. Uno studio dell'acido desossiribonucleico (DNA) mitocondriale non ha potuto convalidare l'ipotesi di una mutazione specifica o di un particolare polimorfismo collegato alla malattia. Nei pazienti caucasici, un lavoro collaborativo francese ha mostrato una discreta sovra rappresentazione dell'allele HLA-DRB1 nei pazienti NMO positivi per l'anticorpo anti-AQP4 ⁴⁶.

3.1 Diagnosi

La NMO è una malattia rara e i suoi criteri diagnostici cambiano costantemente da quando è stato identificato un biomarcatore specifico, con la descrizione di nuove forme cliniche o radiologiche.

Così i criteri “classici” di Wingerchuck 1999 hanno lasciato il posto ai criteri di Wingerchuck 2006⁴¹, come riportato in tabella 2, integrando lo stato sierologico per gli anti-NMO (anti-AQP4). Tuttavia, casi isolati di mielite trasversa longitudinale estesa isolata, casi di NORB isolati o ricorrenti, e alcune lesioni del tronco cerebrale o diencefalico associate all’anti-AQP4 non rispettavano i criteri del 2006.

Tabella 2: Criteri della neuromielite ottica del 2006 ⁴¹

Almeno un episodio di neurite ottica

E un episodio di mielite trasversa acuta

E almeno due dei tre criteri seguenti:

- RM midollare con una lesione estesa su almeno tre segmenti vertebrali
- RM celebrale all’inizio della malattia che non soddisfa i criteri di SM
(criteri di Paty)
- Anticorpo anti-NMO/anti-AQP4

Questi criteri diagnostici dovevano essere modificati da una giuria internazionale di esperti ed è stata introdotta l’espressione “NMO Spectrum Disorder”⁴², (tabella 3). Tuttavia, questi criteri richiedono la validazione nella pratica clinica, prima di essere formalmente accettati. Il gruppo di esperti all’origine di questi nuovi criteri ha anche sviluppato delle raccomandazioni per le forme pediatriche di NMO, forme chiamate “monofasiche”, e il test di rilevamento degli anti-AQP4 e anti MOG ⁴³.

Tabella 3: Criteri di Neuromyelitis Optica Spectrum Disorder (NMOSD) del 2015 ⁴²

Anti-AQP4 positivi	Anti-AQP4 negativi
Almeno un segno clinico caratteristico	Almeno due segni clinici caratteristici tra cui: <ul style="list-style-type: none">• almeno un episodio di NORB, MATLE o sindrome dell’area postrema• diffusione nello spazio (almeno due segni caratteristici)• caratteristiche RM soddisfatte

Test positivo per gli anticorpi anti-AQP4 con il miglior metodo di rilevazione (<i>cell-based assay</i> altamente consigliato)	Test negativo per gli anticorpi anti-AQP4 con il miglior metodo di accertamento o test non accessibile
Esclusione delle diagnosi differenziali	Esclusione delle diagnosi differenziali

Segni clinici caratteristici

Frequenti: neurite ottica retrobulbare, mielite acuta, sindrome dell'area postrema: singhiozzo o nausea/vomito incontrollabili inspiegabili

Più rari: sindrome acuta del tronco cerebrale, narcolessia sintomatica o sindrome diencefalica clinica con lesioni diencefaliche alla RM tipiche di NMOSD, sindrome encefalitica sintomatica con lesioni cerebrali alla risonanza magnetica tipiche di NMOSD

Segni RM necessari per la diagnosi di NMOSD in assenza di un test positivo per gli anticorpi anti-AQP4

Neurite ottica: RM cerebrale normale o anomalie non specifiche della sostanza bianca o ipersegnale T2 del nervo ottico o lesione rinforzata dopo l'iniezione di gadolinio su più della metà della lunghezza del nervo ottico o che raggiunge il chiasma ottico

Mielite acuta: lesione midollare alla RM che si estende su più di tre segmenti vertebrali adiacenti o atrofia spinale focale su più di tre segmenti vertebrali adiacenti con una storia compatibile con una mielite acuta

Sindrome dell'area postrema: lesione bulbare posteriore/lesioni dell'area postrema

Sindrome del tronco cerebrale acuta: lesioni periependimali del tronco cerebrale

3.2 - Terapia

Non ci sono terapie approvate per NMOSD: i pazienti vengono trattati con terapie legate al trattamento delle ricadute, ad esempio: steroidi, immunoglobulina endovenosa (IVIG) e plasmaferesi⁴⁷ e, con indicazione "off-label", con immunosoppressori a lungo termine ad esempio: azatioprina, metotrexato e micofenolato mofetil (MMF)⁴⁷.

Recentemente ampi studi retrospettivi⁴⁸⁻⁵¹ e metanalisi⁵² hanno suggerito che i farmaci che prendono di mira le cellule B (ad esempio: Rituximab) sono efficaci nel prevenire le ricadute in NMOSD.

4 - Rituximab

Rituximab è il primo anticorpo monoclonale anti CD20 chimerico. Commercializzato dal 1998, agisce legandosi al recettore di superficie CD20 e determina 'apoptosi dei linfociti B. È un farmaco approvato per diverse patologie, tra cui Linfoma non Hodgkin, Leucemia Linfatica Cronica, mentre per la SM e per la NMO è un farmaco off label.

Dopo i risultati incoraggianti dei Test clinici di fase II – nella RRSM ² e nei trial di fase II e III per la forma PPMS ¹, la procedura per far approvar il farmaco si è interrotta. Il motivo di tale interruzione sta nel fatto che nel 2015 è scaduto il brevetto e l'azienda produttrice ha introdotto un altro farmaco ad azione identica al RTX: Ocrelizumab ^{3,53}. L'efficacia e la sicurezza di Ocrelizumab sono state effettivamente valutate in tre studi randomizzati, mostrando la superiorità su Interferone beta 1-a nel trattamento di RRMS^{3,53}, e mostrando un effetto nel ridurre la progressione della disabilità nella forma PPMS ⁴.

Anche se il profilo di sicurezza di Ocrelizumab sembra nel complesso rassicurante, è stato segnalato un aumento del rischio di cancro al seno durante il trattamento ^{3,53}. Inoltre, sono state osservate infezioni tipiche nel trattamento dell'artrite reumatoide con Ocrelizumab ⁵⁴.

Senza dimenticare che il costo del trattamento con Ocrelizumab è notevole.

Nel frattempo, RTX è stato ampiamente utilizzato come terapia off-label nella SM ^{5,55-56} e in molte altre condizioni neuro immunologiche con risultati incoraggianti ⁵⁷⁻⁵⁸. Nonostante le indicazioni riferiscano che RTX è generalmente ben tollerato e sicuro anche a lungo termine ⁵⁷, i dati riguardo al suo uso nella SM sono scarsi.

Pertanto, ci sembrava utile indagare ulteriormente l'efficacia e la sicurezza di RTX nel trattamento di una vasta popolazione di pazienti con SM italiani e svizzeri.

5 - Il progetto

Scopo del progetto è stato quello di creare un database italiano che raccogliesse pazienti affetti da SM e NMO trattati con Rituximab e poter quindi supportare l'efficacia e la safety di questo farmaco.

Abbiamo disegnato uno studio multicentrico, retrospettivo e prospettico che ha coinvolto, in totale 23 centri italiani ed uno svizzero.

Il progetto è stato sottomesso al Comitato etico Regionale della Liguria ed ha ricevuto parere favorevole, mentre ogni centro ha ricevuto autorizzazione dal comitato etico locale.

I dati sono stati raccolti attraverso la compilazione di CRF, preparate dalla sezione di Biostatistica in collaborazione con il DINO GMI.

Abbiamo creato due database uno SM ed uno per NMO.

5.1 CRF

I dati sono stati anonimizzati, dal centro partecipante, e poi inviati alla sezione di Biostatistica del Dipartimento di Scienze della Salute, Università di Genova, centro coordinatore del progetto, attraverso la compilazione delle CRF.

Ogni patologia aveva 3 fogli da compilare:

Figura 1: CRF per i dati demografici e dati al baseline;

Figura 2: CRF per i dati di induzione di Rituximab;

Figura 3: CRF per i dati di Follow up.

Le CRF erano pressoché identiche per entrambe le patologie, l'unica differenza (come si vede nelle figure 4-5) per il DB di NMO nel quale abbiamo inserito i campi relativi ai test anti-AQP4 e anti MOG.

Primo foglio: Demografiche e cliniche basali. La data di baseline è la data della prima infusione di Rituximab. (Figura 1)

Figura 1: CRF DEMOGRAFICHE E CLINICHE BASALE

ID	<input type="text" value="(Nuovo)"/>	Data fine trattamento 1	<input type="text"/>
Nome centro	<input type="text"/>	Sospeso1	<input type="checkbox"/>
Codice centro	<input type="text"/>	Motivo Sospensione1	<input type="text"/>
Codice paziente	<input type="text"/>	Trattamento precedente 2	<input type="text"/>
Iniziali paziente (nome-cognome)	<input type="text"/>	Data inizio trattamento 2	<input type="text"/>
Sesso	<input type="text"/>	Data fine trattamento 2	<input type="text"/>
Peso (kg)	<input type="text"/>	Sospeso2	<input type="checkbox"/>
Altezza (cm)	<input type="text"/>	Motivo Sospensione2	<input type="text"/>
BMI	<input type="text"/>	Trattamento precedente 3	<input type="text"/>
Comorbidità autoimmuni	<input type="checkbox"/>	Data inizio trattamento 3	<input type="text"/>
Comorbidità	<input type="text"/>	Data fine trattamento 3	<input type="text"/>
Data nascita	<input type="text"/>	Sospeso3	<input type="checkbox"/>
Data esordio	<input type="text"/>	MotivoSospensione3	<input type="text"/>
Data diagnosi	<input type="text"/>	Trattamento precedente 4	<input type="text"/>
Data visita baseline	<input type="text"/>	Data inizio trattamento 4	<input type="text"/>
Età al baseline	<input type="text"/>	Data fine trattamento 4	<input type="text"/>
Fase di malattia	<input type="text"/>	Sospeso4	<input type="checkbox"/>
EDSS stabilizzato 6 mesi pre Rituximab	<input type="text"/>	MotivoSospensione4	<input type="text"/>
Numero di ricadute 2 anni pre	<input type="text"/>	Trattamento precedente 5	<input type="text"/>
Numero di ricadute 1 anno pre	<input type="text"/>	Data inizio trattamento 5	<input type="text"/>
RM 1 anno pre rituximab attiva	<input type="checkbox"/>	Data fine trattamento 5	<input type="text"/>
Lesioni spinali anno precedente	<input type="checkbox"/>	Sospeso5	<input type="checkbox"/>
EDSS baseline	<input type="text" value="0"/>	MotivoSospensione5	<input type="text"/>
Trattamento precedente 1	<input type="text"/>		
Data inizio trattamento 1	<input type="text"/>		

Figura 4: CRF DEMOGRAFICHE E CLINICHE BASALE NMO *

Codice paziente	<input type="text"/>	Sospeso1	<input type="checkbox"/>
Iniziali paziente (nome-cognome)	<input type="text"/>	Motivo Sospensione1	<input type="text"/>
Paziente NMO?	<input type="checkbox"/>	Trattamento precedente 2	<input type="text"/>
Anticorpi anti aquaporina-4	<input type="checkbox"/>	Data inizio trattamento 2	<input type="text"/>
Anticorpi anti MOG	<input type="checkbox"/>	Data fine trattamento 2	<input type="text"/>
Sesso	<input type="text"/>	Sospeso2	<input type="checkbox"/>
Peso	<input type="text"/>	Motivo Sospensione2	<input type="text"/>

*nella CRF demografica e clinica basale della NMO sono evidenziati i campi relativi ai test anti-AQP4 e anti MOG

Secondo foglio: Induzione. In questa sezione sono stati registrati i dati relativi alla somministrazione del farmaco. (Figura 2)

Figura 2: CRF INDUZIONE

ID	<input type="text" value="(Nuovo)"/>	Data Terza Infusione	<input type="text"/>
Nome centro	<input type="text"/>	Dose3 (mg)	<input type="text"/>
Codice centro	<input type="text"/>	Eventi avversi Infusione 3	<input type="checkbox"/>
Codice paziente	<input type="text"/>	Descrizione Evento Avverso 3	<input type="text"/>
Tipo Protocollo	<input type="text"/>	Evento avverso 3 serio?	<input type="checkbox"/>
Data Prima Infusione	<input type="text"/>	Data Quarta Infusione	<input type="text"/>
Dose1 (mg)	<input type="text"/>	Dose4 (mg)	<input type="text"/>
Eventi avversi Infusione 1	<input type="checkbox"/>	Eventi avversi Infusione 4	<input type="checkbox"/>
Descrizione Evento Avverso 1	<input type="text"/>	Descrizione Evento Avverso 4	<input type="text"/>
Evento avverso 1 serio?	<input type="checkbox"/>	Evento avverso 4 serio?	<input type="checkbox"/>
Data Seconda Infusione	<input type="text"/>	Data Quinta Infusione	<input type="text"/>
Dose2 (mg)	<input type="text"/>	Dose5 (mg)	<input type="text"/>
Eventi avversi Infusione 2	<input type="checkbox"/>	Eventi avversi Infusione 5	<input type="checkbox"/>
Descrizione Evento Avverso 2	<input type="text"/>	Descrizione Evento Avverso 5	<input type="text"/>
Evento avverso 2 serio?	<input type="checkbox"/>	Evento avverso 5 serio?	<input type="checkbox"/>

Terzo foglio: Follow up. In questo foglio venivano inseriti i dati relativi ad ogni visita di follow up. (Figura 3)

Figura 3: CRF FOLLOW UP

ID	(Nuovo)	Descrivere brevemente evento avverso	
Codice centro		Data inizio evento avverso	
Codice paziente		Data fine evento avverso	
Data visita		Evento avverso serio?	<input type="checkbox"/>
EDSS		Azione intrapresa	
Numero ricadute da visita precedente		Il paziente continua Rituximab?	<input type="checkbox"/>
Data inizio ricaduta 1		Il paziente prosegue l'osservazione?	<input type="checkbox"/>
Data fine ricaduta 1		Data prelievo	
Data inizio bolo steroideo 1		Esito prelievo	
Data fine bolo steroideo 1		Protocollo mantenimento?	
Data inizio ricaduta 2		Infusione	<input type="checkbox"/>
Data fine ricaduta 2		Data Infusione	
Data inizio bolo steroideo 2		Evento avverso post mantenimento?	<input type="checkbox"/>
Data fine bolo steroideo 2		Evento avverso serio post mantenimento?	<input type="checkbox"/>
Data inizio ricaduta 3		Descrivere brevemente evento avverso post mantenimento	
Data fine ricaduta 3		Dosaggio IgG totali (mm/dl)	
Data inizio bolo steroideo 3		RM eseguita	<input type="checkbox"/>
Data fine bolo steroideo 3		Data RM	
Data TRM encefalo		Lesioni in T2	
Esito TRM encefalo		Lesioni Gd	
Eventi avversi da visita precedente	<input type="checkbox"/>		

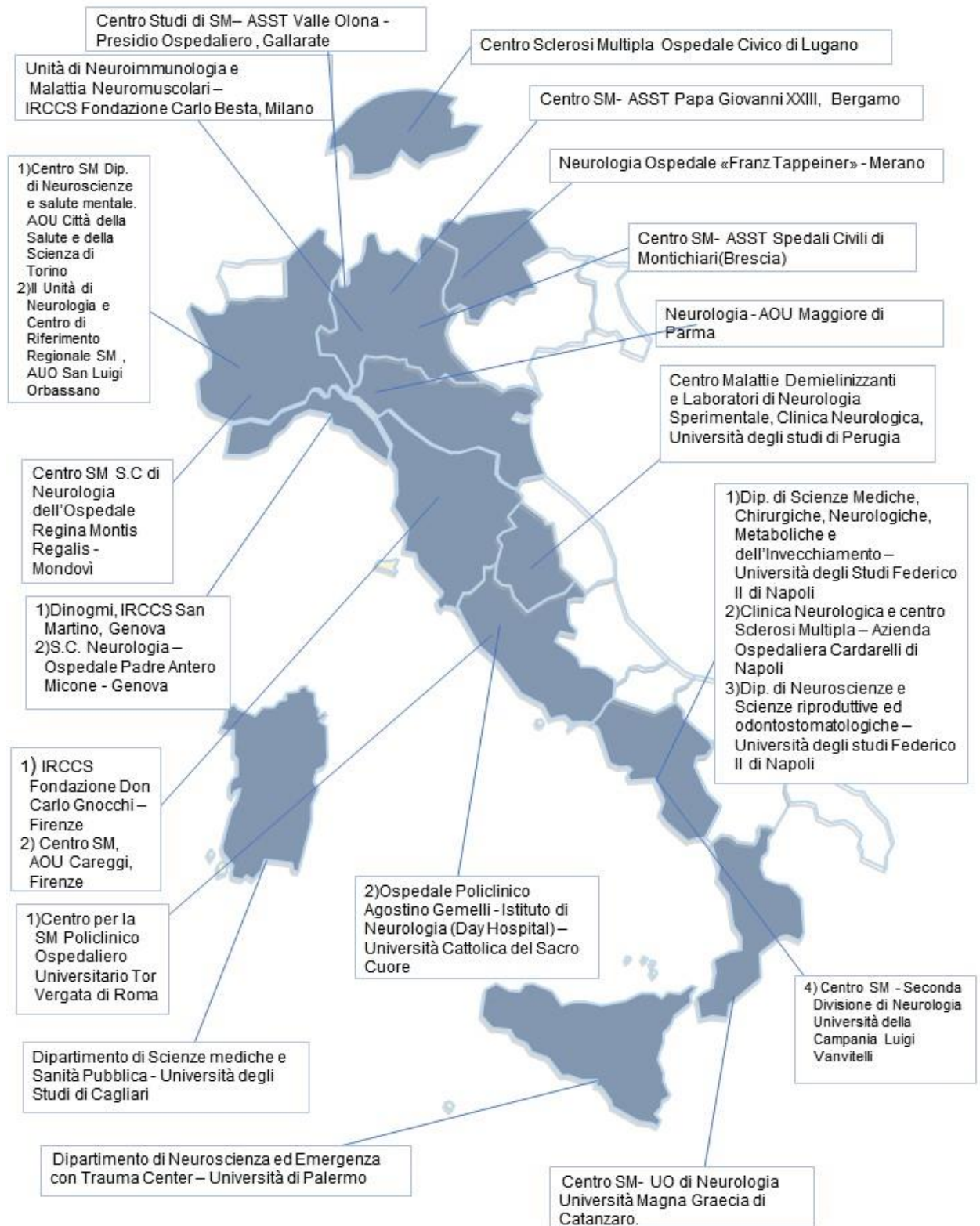
Figura 5: CRF FOLLOW UP NMO*

Data fine ricaduta 2		Evento avverso post mantenimento?	<input type="checkbox"/>
Data inizio bolo steroideo 2		Evento avverso serio post mantenimento?	<input type="checkbox"/>
Data fine bolo steroideo 2		Descrivere brevemente evento avverso post mantenimento	
Data inizio ricaduta 3		Anticorpi anti aquaporina-4 follow-up	<input type="checkbox"/>
Data fine ricaduta 3		Anticorpi anti MOG follow-up	<input type="checkbox"/>
Data inizio bolo steroideo 3		Dosaggio IgG totali	
Data fine bolo steroideo 3		RM eseguita	<input type="checkbox"/>
Data TRM encefalo		Data RM	
Esito TRM encefalo		Lesioni in T2	

*nella CRF demografica e clinica basale della NMO sono evidenziati i campi relativi ai test anti-AQP4 e anti MOG

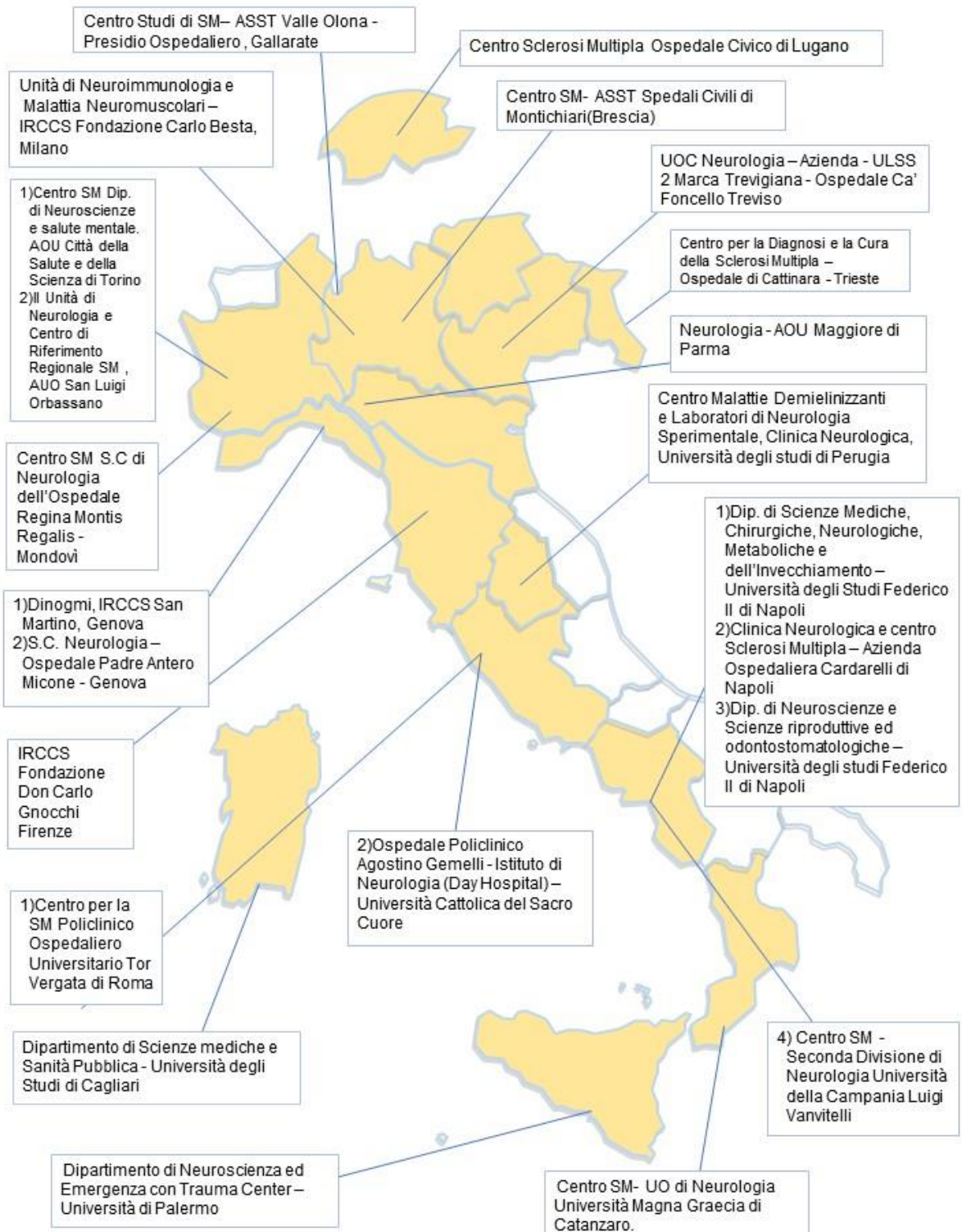
Per il database SM sono stati coinvolti 22 centri italiani ed uno svizzero (Figura 7).

Figura 7: centri SM



Per il database NMO abbiamo coinvolto 23 centri italiani ed uno svizzero (Figura 8)

Figura 8: centri NMO



5.2 Database Sclerosi Multipla

Per lo studio sono stati arruolati 472 pazienti, 451 hanno completato il regime di induzione e 335 di questi avevano almeno una visita di follow up alla fine del periodo di induzione. (Tabella 4)

Tabella 4: Pazienti SM arruolati

472 Pazienti SM arruolati
<i>17 pazienti con trattamento RTX discontinuo o mancanza di informazioni di induzione</i>
<i>1 paziente CIS</i>
<i>3 pazienti trattati con RTX per altre ragioni rispetto a SM</i>
451 Pazienti SM Con dati demografici, clinici e di induzione completi
<i>96 pazienti privi di visite di follow up dopo la fase di induzione</i>
355 Pazienti SM analizzati

Solo 37 pazienti erano naïve rispetto al trattamento precedente RTX, gli altri erano passati a RTX dopo altre DMT:

Tabella 5: DMT pre RTX

Last DMT before RTX, n (%)	N=318	N=169	N=29	N=120
Alemtuzumab	3 (0.9)	1 (0.6)	0 (0.0)	2 (1.7)
Cyclophosphamide	16 (5.0)	6 (3.6)	3 (10.3)	7 (5.8)
Daclizumab	1 (0.3)	1 (0.6)	0 (0.0)	0 (0.0)
Dimethyl fumarate	29 (9.1)	16 (9.5)	3 (10.3)	10 (8.3)
Fingolimod	74 (23.3)	34 (20.1)	8 (27.6)	32 (26.7)
Glatiramer acetate	28 (8.8)	15 (8.9)	1 (3.5)	12 (10.0)

Le ragioni per il passaggio a RTX erano principalmente la scarsa efficacia (55%), scarsa tolleranza o AE (16.7%) correlati a precedenti trattamenti e positività a JVC (11.3%) per i pazienti trattati con Natalizumab.

Il follow-up medio è stato di 1.9 anni (range: 0.5 - 8.8 anni) e il tempo medio tra le infusioni era di 7.1 mesi (range: 2.6 – 27.3 mesi); i pazienti hanno ricevuto una media di 2 (0-16) infusioni durante il follow-up.

Il 12.4% dei pazienti è passato ad altro trattamento durante il follow-up.

Il tempo medio di switch è stato di 1.8 anni (0.5 – 8.8):

- 20 pazienti sono passati a Ocrelizumab;
- 4 pazienti sono passati a Dymethyl fumarato;
- 4 pazienti sono passati a Mithoxantrone;
- 3 pazienti si sono sottoposti a trapianto di cellule staminali ematopoietiche;
- 2 pazienti sono passati a Natalizumab;
- 2 pazienti a Fingolimod;
- 9 pazienti hanno scelto altri trattamenti (interferone-glatimer acetato-methylprednisolone).

5.3 Database Neuromielite ottica

Sono stati arruolati 131 pazienti. (Tabella 6)

Tabella 6: Pazienti NMO arruolati

131 Pazienti NMOSD arruolati

*3 pazienti con trattamento RTX discontinuo durante la fase di induzione
1 paziente non ha seguito il trattamento RTX in modo continuativo*

127 Pazienti NMOSD Con dati demografici, clinici e di induzione completi

*5 pazienti persi al follow up
3 pazienti privi di visite di follow up dopo la fase di induzione*

119 Pazienti NMOSD analizzati

Per 105 pazienti avevamo l'esito di auto ab sero-status, mentre per 22 era sconosciuto (Tabella 7):

Tabella 7: dati AB-sero status

Anti-AQP4 positive	80/105 (76.2%)
Anti-MOG positive	12/105 (11.4%)
Double negative	13/105 (12.4%)

Il 51.2% dei pazienti erano naïve rispetto al trattamento, fra coloro che hanno ricevuto trattamenti precedenti la maggior parte (53%) era stato trattato con Azatioprina, gli altri con Fingolimod, Natalizumab, Glatimer acetato, Interferone o altri, tutti trattamenti per la SM.

Le ragioni per iniziare il trattamento con RTX sono state l'inefficacia del precedente trattamento, scarsa tolleranza o AE, e altre ragioni.

Il trattamento è stato discontinuo per 4 pazienti durante la fase di infusione (1 a causa di IRR, 2 per decisione del paziente/medico ed un paziente è deceduto a causa di deterioramento neurologico).

5.4 – Regime di trattamento: induzione e mantenimento

Come abbiamo precisato in precedenza, Rituximab è un farmaco utilizzato off label, sia per la SM che per la NMO, quindi non esiste un unico protocollo di terapia.

Per questo motivo abbiamo classificato i protocolli (Tabella 8 e 9) in base a quelli utilizzati dai centri coinvolti nello studio.

Tabella 8: Protocolli di Induzione

Sclerosi Multipla	Neuromielite ottica
Regimi di induzione	
(a) 2 infusioni 375 mg/m ² a 15 giorni di distanza (b) 2 infusioni 1000 mg a 15 giorni di distanza (c) 4 infusioni 375 mg/m ² ogni settimana per 4 settimane	(IND-A): 2 infusioni 1000 mg a 15 giorni di distanza (IND-B): 4 infusioni 375 mg/m ² ogni settimana per 4 settimane
Regimi di mantenimento*	
(a) 1000 mg ogni 6 mesi (tempo fisso) (b) Infusione basata sui valori di CD19 o CD27 ⁵⁹	(M-A): 1000 mg ogni 6 mesi (tempo fisso) (M-B): Infusione basata sui valori di CD19 o CD27 ⁴⁸ (B1) CD19 (B2) CD27

*Re-infusioni basate sulla ricomparsa di cellule CD19 + è stato definito come cellule CD19 + che superano l'1% di cellule mononucleari del sangue periferico, durante le re-infusioni sulla base della ricomparsa delle cellule CD27 + memoria B (CD19 +) quando questa popolazione superava lo 0,05% di

cellule mononucleari del sangue periferico nei primi 2 anni e 0,1% negli anni successivi ^{48,59}. Per i pazienti sottoposti a questi regimi abbiamo registrato i risultati del prelievo di sangue ogni 12 settimane.

Tabella 9: Protocolli di Mantenimento

Sclerosi Multipla All patients (451)

Regime di induzione (%)	
two 375 mg/m ² infusions 15 days apart	25 (5.5)
two 1000 mg infusions 15 days apart	392 (86.9)
four 375 mg/m ² infusions every week for 4 weeks	27 (6.0)
1000 every 6 months (no induction)	7 (1.6)
Regime di mantenimento (%)	
Fixed time points (6 months) infusions of 1000 mg	221 (62.2)
Cytofluorimetric based reinfusion regimens	132 (37.2)
Re-infusion based on CD19+ cells reappareance	34/132 (25.8)
Re-infusion based on CD27+ cells reappareance	98/132 (74.2)
Other	2 (0.6)

Neuromielite Ottica All patients (131)

Regime di induzione (%)	
four 375 mg/m ² infusions every week for 4	43(34)
two 1000 mg infusions 15 days apart	80 (63)
Regime di mantenimento (%)	
Fixed time points (6 months) infusions of 1000 mg	221 (62.2)
Cytofluorimetric based reinfusion regimens	132 (37.2)
Re-infusion based on CD19+ cells reappareance	34/132 (25.8)
Re-infusion based on CD27+ cells reappareance	98/132 (74.2)
Other	2 (0.6)

6 – Outcome

Le similitudini nelle due patologie ci hanno permesso di individuare anche i medesimi outcomes clinici per lo studio: il tasso annuale di ricaduta (ARR); tempo alla prima ricaduta (TTFR) e il tempo alla progressione dell'EDSS.

Per la SM abbiamo misurato anche l'outcome radiologico: attività di risonanza magnetica espressa come presenza di nuovo T2 (rispetto a basale) e/o lesioni GD + alla RM cerebrale, eseguita a 1 anno dal baseline.

Le ricadute (per la definizione si rimanda alla figura 6) sono state contate dall'inizio del trattamento con RTX a 24 mesi o all'ultimo follow-up disponibile, o alla data dell'eventuale cambio/abbandono del trattamento, a seconda di quale evento si fosse verificato per primo.

Figura 6: Definizione di ricaduta



Nel contare le ricadute dopo un ciclo completo di induzione abbiamo escluso dall'analisi le ricadute avvenute nei primi 3 mesi dall'inizio del trattamento, poiché il farmaco ha bisogno di tempo per raggiungere la massima efficacia⁶⁰⁻⁶¹.

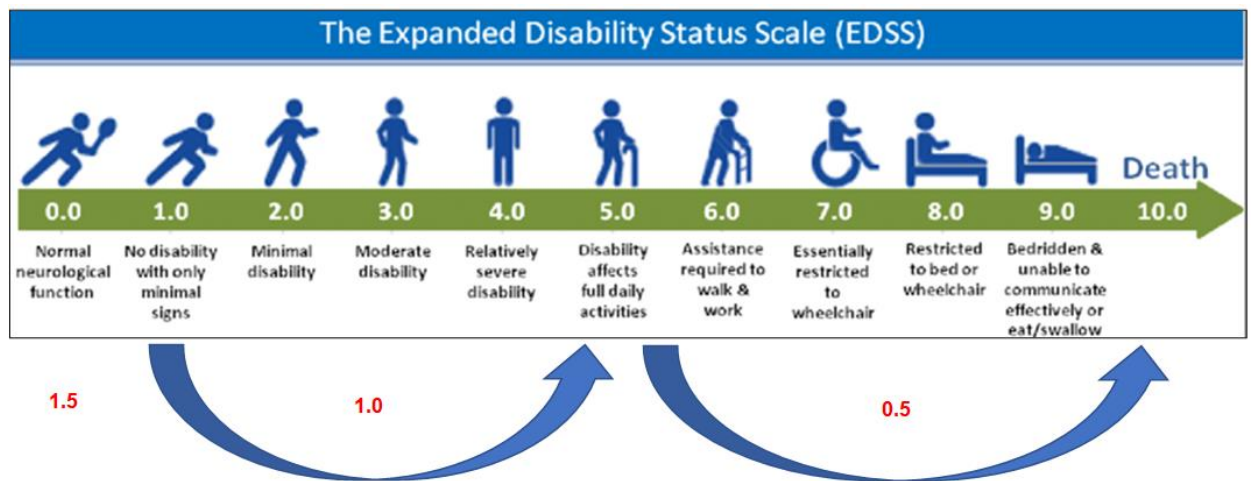
Le ricadute sono state quindi conteggiate dal terzo mese dopo l'inizio del trattamento a 24 mesi (analisi di 2 anni) o all'ultimo follow-up disponibile. Analisi di sensibilità sono state eseguite includendo tutte le ricadute.

L'EDSS è stato valutato 6 mesi prima dell'inizio di RTX, al baseline e ripetuto ogni 6 mesi.

La progressione della disabilità (schematizzata in Figura 9) è stata definita come un aumento, rispetto al punteggio al baseline, di almeno 1,5 punti EDSS se il punteggio al baseline era 0; di 1,0 punti se EDSS al baseline era compreso tra 0,5 e 5,0; di 0,5 punti se punteggio EDSS al baseline era $\geq 5,5$, mantenuto a 6 mesi.

La progressione è stata calcolata per i pazienti per i quali avevamo almeno un anno di follow-up ed avevamo la possibilità di confermare il punteggio.

Figura 9: Progressione EDSS

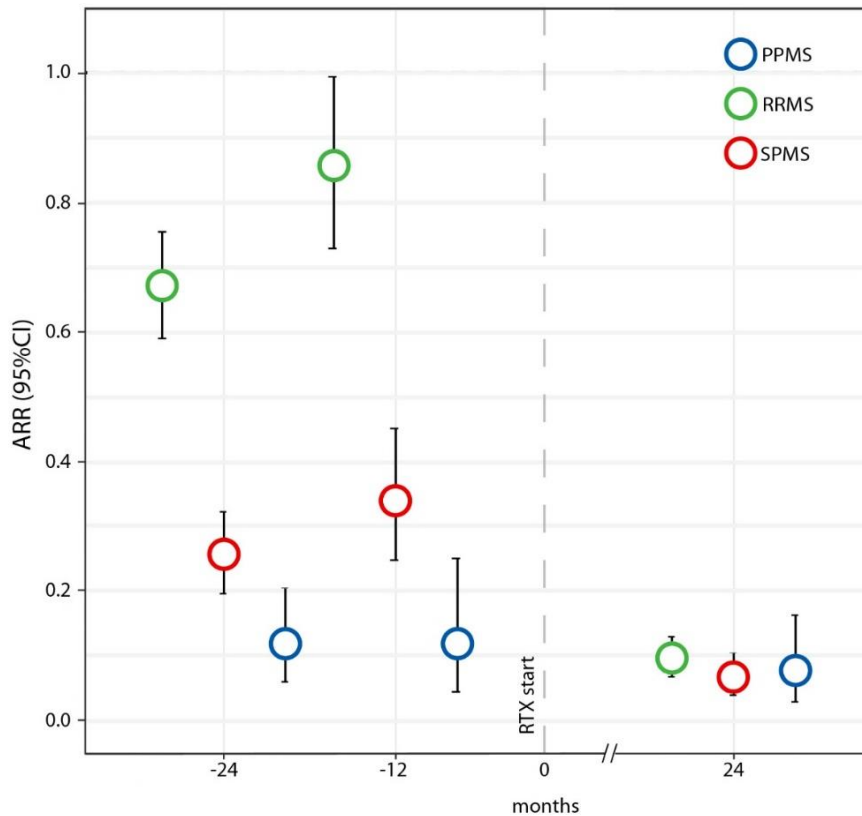


6.1 Risultati – Sclerosi Multipla

L' ARR nei 2 anni e nell'anno pre RTX era 0,67 (intervallo di confidenza al 95% (CI): 0,59-0,76) e 0,86 (IC 95%: 0,73-0,99) nel gruppo RRMS, 0,25 (IC 95%: 0,20-0,32) e 0,34 (IC 95%: 0,25-0,45) nel gruppo SPMS e 0,12 (IC 95%: 0,06-0,20) e 0,12 (95% CI: 0,04-0,25) nel gruppo PPMS. L'ARR nei 2 anni dopo inizio della terapia con RTX è diminuito a 0,09 (IC 95%: 0,07-0,13) nel gruppo RRMS, a 0,06 (95% CI: 0,04-0,10) nel gruppo SPMS e a 0,07 nei pazienti con PPMS (IC 95%: 0,03-0,13; Figura 2). Il calo rispetto all'anno pre RTX era significativo nel gruppo RRMS e nel gruppo SPMS ($p < .0001$) mentre non ha raggiunto significatività nel gruppo PPMS ($p = 0,45$). (Figura 10)

I fattori associati con ARR e TTFR ad un'analisi univariata sono riportati per la coorte RRMS.

Figura 10: ARR nei due anni pre Rituximab, nell'anno pre rituximab e nei due anni post rituximab

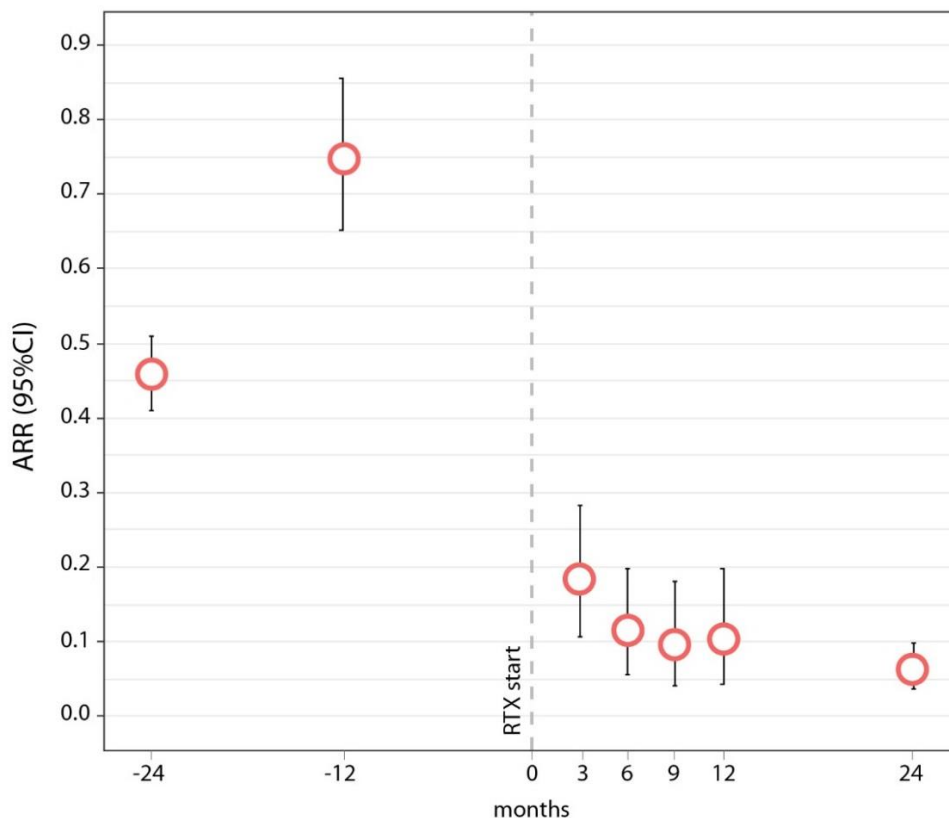


Un numero maggiore di recidive nell'anno pre RTX (hazard ratio (HR) = 1,37 (IC 95%: 1,08-1,74), p = 0,011) era associato a un TTFR più breve su un periodo di 2 anni e ad un ARR più alto durante il trattamento (rate ratio (RR) = 1,45 (IC 95%: 1,03-2,14), p = 0,025).

Il regime di induzione “4 infusioni 375 mg/m² ogni settimana per 4 settimane” o il regime “2 infusioni 375 mg/m² a 15 giorni di distanza” mostrano una tendenza ad un TTFR più breve con un HR = 2,31 (95% CI: 0,91-5,84, p = 0,076).

Valutando la cinetica della riduzione del tasso di ricaduta dopo l'inizio della terapia di RTX, abbiamo scoperto che ARR ha iniziato a diminuire durante i primi 3 mesi post RTX (ARR = 0,18 (IC 95%: 0,11-0,20)), ed è ulteriormente diminuito al mese 6 (ARR = 0,11 (IC 95%: 0,06-0,20)) fino a rimanere costantemente basso successivamente, ad intervalli di 3 mesi, fino a 2 anni dopo l'inizio dell'RTX. (Figura 11.)

Figura 11: Tendenza di ARR nei 2 anni e nell'anno pre rituximab e 2 anni post rituximab.



EDSS: Expanded Disability Status Scale; HR: hazard ratio; CI: Intervallo di confidenza; RTX: rituximab; PPMS: Sclerosi Multipla Primaria progressiva

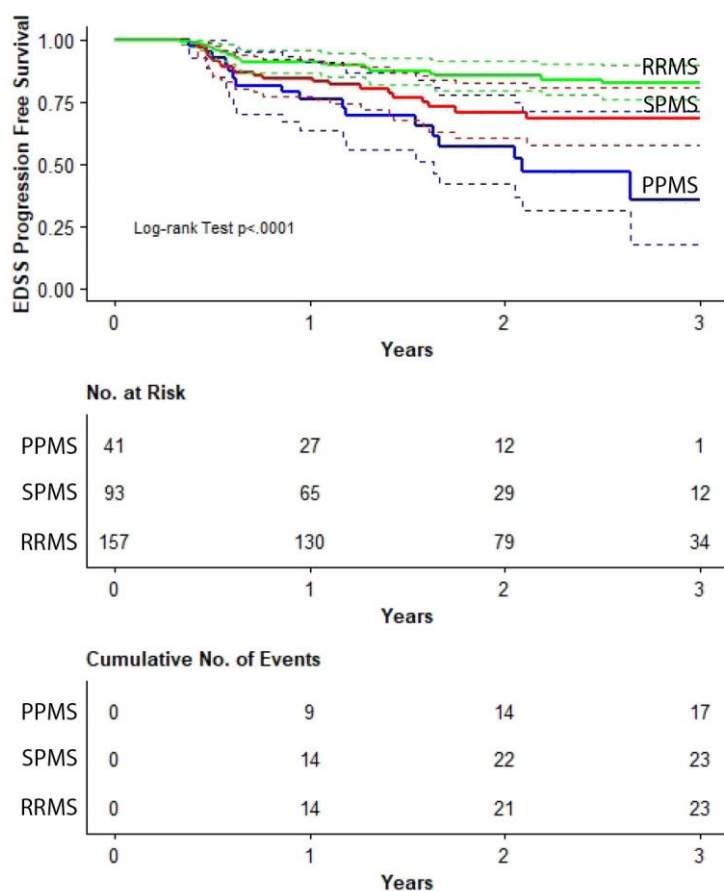
Il punteggio medio di EDSS al baseline era 3,0 (0,0–8,5) in RRMS, 6,0 (2,0–8,5) in SPMS e 5,5 (1,5–7,5) nei pazienti con PPMS.

Il tempo medio alla progressione per i 291 pazienti che avevano almeno 1 anno di valutazione EDSS era 1,6 (0,3–8,8) anni. La percentuale di pazienti con progressione di EDSS confermata a 6 mesi dopo 3 anni dall'inizio RTX è stato del 14,6% (errore standard (SE) = 0,07) nel gruppo RRMS, del 24,7% (SE = 0,11) nel gruppo SPMS e del 41,5% (SE = 0,17) nel gruppo PPMS.

Nell'analisi univariata, essere un PPMS o un SPMS paziente rispetto a un paziente RRMS (HR = 3,69 (IC 95%: 1,97-6,94), $p < 0,0001$ e HR = 2,03 (95%

CI: 1,14–3,62), $p = 0,017$, rispettivamente) ed essere un paziente naïve al trattamento (HR = 2,01 (IC 95%: 1,05– 3,85), $p = 0,036$) erano l'unico fattore associato ad un aumento del rischio di progressione di EDSS durante RTX nei 3 anni. (Figura 12)

Figura 12: Grafico di Kaplan-Meier per il rischio di progressione confermata dell'EDSS durante il trattamento con rituximab nell'arco di 3 anni.



L'analisi multivariata ha mantenuto solo la forma di SM nel modello finale: il rischio di progressione dell'EDSS era più alto per il gruppo PPMS rispetto ai pazienti RRMS (HR = 3,28 (IC 95%: 1,68-6,40), $p = 0,0005$) e per il gruppo SPMS rispetto ai pazienti RRMS (HR = 2.09 (IC 95%: 1,17-3,74), $p = 0,013$).

Risonanza Magnetica

Tra i 365/451 (80,9%) pazienti con disponibilità di MRI cerebrale al baseline, 213 (58,4%) avevano nuove lesioni in T2 e/o lesioni GD + sulla scansione al baseline. 171 pazienti (46,8% di quelli con MRI al baseline) avevano una MRI 12 mesi dopo l'inizio di trattamento con RTX. Di questi pazienti, 27 (15,8%) aveva nuove lesioni in T2 e / o GD +; 7 pazienti (4,1%) aveva lesioni GD + e 23 (13,4%) avevano nuove lesioni in T2.

In sei pazienti (3 RRMS, 2 SPMS e 1 PPMS) senza lesioni attive al baseline, sono state trovate nuove lesioni T2 nella RM di 12 mesi dopo l'RTX iniziazione.

6.2 – Risultati – Neuromielite ottica

Il follow-up medio, valutato su 119 pazienti è stato di 1,7 anni (range 0,1-11,6 anni) e l'intervallo medio tra le infusioni, esclusa la fase di induzione, era di 8,4 mesi (deviazione standard (SD) \pm 4,5).

Quattro pazienti hanno interrotto RTX durante il follow-up (sono passati ad Azatioprina, MMF, Tocilizumab o IVIG) e 3 pazienti sono deceduti per complicanze della malattia (il tempo medio alla morte era di 3,2 anni).

L'ARR era 0,98 (intervallo di confidenza al 95% (CI): 0,86-1,11) nei 2 anni e 1,69 (IC 95%: 1,47-1,93) nell'anno pre RTX; l'ARR è diminuito significativamente durante il trattamento a 0,29 (IC 95%: 0,20-0,41) e 0,28 (IC 95%: 0,21-0,37) durante l'anno 1 e l'anno 2, rispettivamente ($p < 0,0001$).

L'ARR durante l'intero follow-up è stato di 0,19 (IC 95%: 0,15-0,24).

In un'analisi di sensibilità abbiamo valutato anche l'impatto delle 11 recidive verificatesi nei primi 3 mesi dopo l'inizio dell'RTX: l'ARR era 0,40 (95% CI: 0,29-0,54) durante il primo anno di trattamento ed esso era 0,35 (95% CI: 0,27-0,45) durante il secondo anno ($p < 0,001$). L'ARR durante l'intero follow-up è stato di 0,23 (IC al 95%: 0,18-0,28).

L'analisi di sensibilità è stata eseguita escludendo undici pazienti positivi anti-MOG, e non sono state trovate differenze nell'ARR. L'ARR era 0,36 (95% CI: 0,25-0,49) durante il primo anno di trattamento ed esso era 0,32 (IC 95%: 0,24-0,42) durante il secondo anno. L'ARR durante l'intero follow-up è stato 0,22 (95% CI: 0,17-0,27).

I fattori associati all'ARR durante il trattamento, nell'analisi univariata, sono riepilogati in tabella 10:

Tabella 10: Fattori associati ad ARR

	2-Year ARR		2-Year TFR	
	RR (95% CI)	p-value	HR (95% CI)	p-value
Age at NMOSD onset, years	1.0 (1.0-1.0)	0.28	1.0 (1.0-1.0)	0.59
Disease duration, years	1.0 (1.0-1.0)	0.51	1.0 (0.9-1.0)	0.53
Gender (female vs. male)	1.0 (0.2-1.8)	0.97	0.9 (0.3-2.7)	0.91

Presence of comorbidity	0.5 (0.3-1.1)	0.07	0.7 (0.3-1.7)	0.39
Presence of autoimmune comorbidity	1.1 (0.5-2.1)	0.84	0.7 (0.3-2.0)	0.54
EDSS 6 months prior RTX	0.9 (0.8-1.1)	0.46	0.9 (0.7-1.1)	0.20
Number of relapse 1 year before RTX	1.7 (1.5-2.0)	<.0001*	2.0 (1.4-2.7)	<.0001*
Presence of active MRI 1 year before RTX	1.7 (0.8-3.5)	0.15	1.4 (0.6-3.5)	0.46
Presence of spinal lesion 1 year pre RTX	0.8 (0.4-1.6)	0.59	0.6 (0.2-1.4)	0.23
Auto ab serostatus (AQ4 positive as reference)				
AQ4 negative	0.7 (0.3-1.6)	0.36	0.7 (0.2-1.8)	0.17
Anti-MOG positive	1.8 (0.8-4.2)		2.3 (0.7-6.8)	
Treatment history (previously treated vs. naive)	2.5 (1.4-5.0)	0.003*	2.5 (1.0-5.0)	0.05*
Induction regimen (4x375mg/m ² vs. 2x1000mg)	1.7 (1.0-3.3)	0.06	1.7 (0.8-5.0)	0.15
Maintenance regimen (Fixed vs. Cytofluorimetric based)	1.8 (1.0-2.5)	0.12	2.2 (0.8-5.9)	0.10

I risultati sono rappresentati in figura 13.

Un numero maggiore di recidive nell'anno pre RTX (rapporto tra tassi (RR) = 1,7 (IC 95%: 1,5–2,0), $p < 0,001$) ed essere stati precedentemente trattati (RR = 2,5 (IC 95%: 1,4-5,0), $p = 0,003$) erano i fattori associati a un ARR più elevato durante il trattamento (di seguito panel A-B).

Per quanto riguarda l'impatto del regime di trattamento sull'ARR, l'induzione secondo il regime IND-B (RR = 1,7 95% CI: 1,0–3,3, $p = 0,06$) e il mantenimento secondo il regime M-A (RR = 1,8, 95% CI: 1,0–2,5, $p = 0,12$) hanno mostrato una tendenza ad un ARR superiore (di seguito panel C-D).

I fattori quali il numero di recidive nell'anno precedente (RR = 1,6 (95% CI: 1,1-2,3), $p = 0,003$) ed aver ricevuto un trattamento precedente (RR = 3,3 (IC 95%: 1,4-5,0, $p = 0,005$) sono stati mantenuti nell'analisi multivariata.

Il TTFR medio era di 1,1 (intervallo 0,1–8,8) anni. L'analisi univariata ha mostrato che gli stessi fattori associati a un ARR più elevato lo erano significativamente al TTFR su un periodo di 2 anni: il numero di ricadute nell'anno pre RTX (hazard ratio (HR) = 2,0, IC 95%: 1,4–2,7, $p < 0,001$) e trattati in precedenza (HR = 2,5, 95% CI: 1,0-5,0, $p = 0,05$) (di seguito panel E-F). L'analisi multivariata ha mantenuto entrambi i fattori nel modello finale: ricadute nell'anno precedente (HR = 2,2 (95% CI = 1,5-3,0), $p < 0,0001$) e precedentemente trattati (HR = 2,5 (95% CI = 1,1-5,0), $p = 0,03$).

Per quanto riguarda i regimi di trattamento c'è stata una tendenza ad un rischio maggiore di ricaduta per il regime di induzione 4 × 375 mg / m² (IND-B) (HR = 1,7, IC

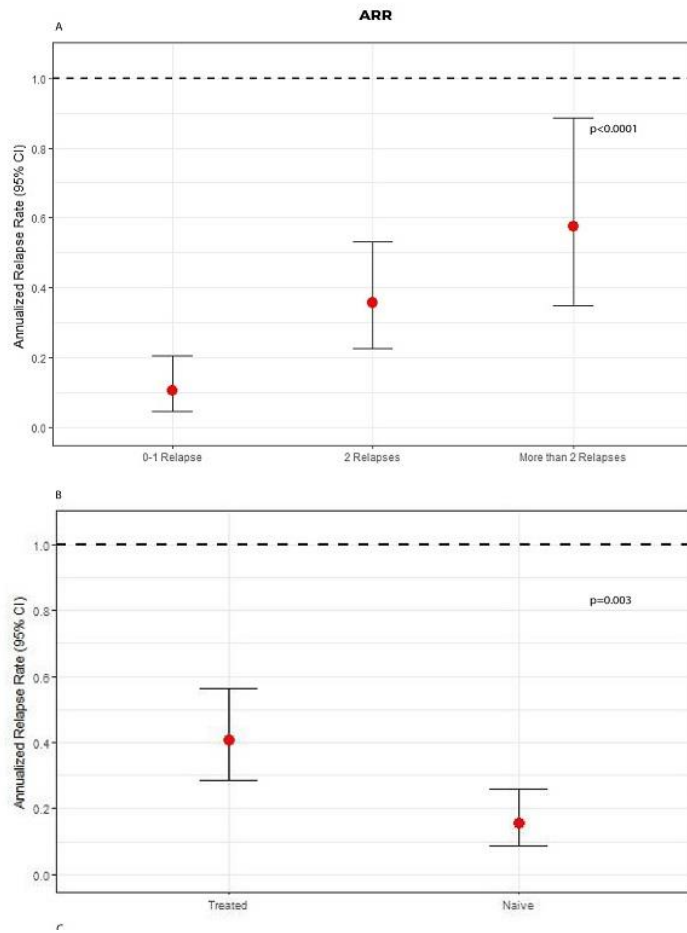
95%: 0,8-5,0, $p = 0,15$) e per il regime di mantenimento a intervalli di tempo fisso (M-A) (HR = 2,2, IC 95%: 0,8-5,9, $p = 0,10$) (di seguito panel G-H).

Inoltre, analizzando i tre protocolli (M-A), reinfusione citofluorimetrica (cellule CD19 + (MB1) e alla ricomparsa delle cellule B di memoria CD27 + (M-B2)), descritte nel capitolo 5.3, ci siamo resi conto che nessuno dei pazienti che ha infuso secondo il regime M-B2 ha avuto ricadute durante l'intera FU e, da notare, i pazienti sono stati reinfusi ad una frequenza inferiore (cioè: con intervalli di infusione più lunghi) e con un ridotto dosaggio di infusione.

A causa della dimensione ridotta del campione e del fatto che il regime M-B2 è stato utilizzato in un solo centro (Genova) per il confronto il valore p ($p = 0,04$) deve essere preso con cautela.

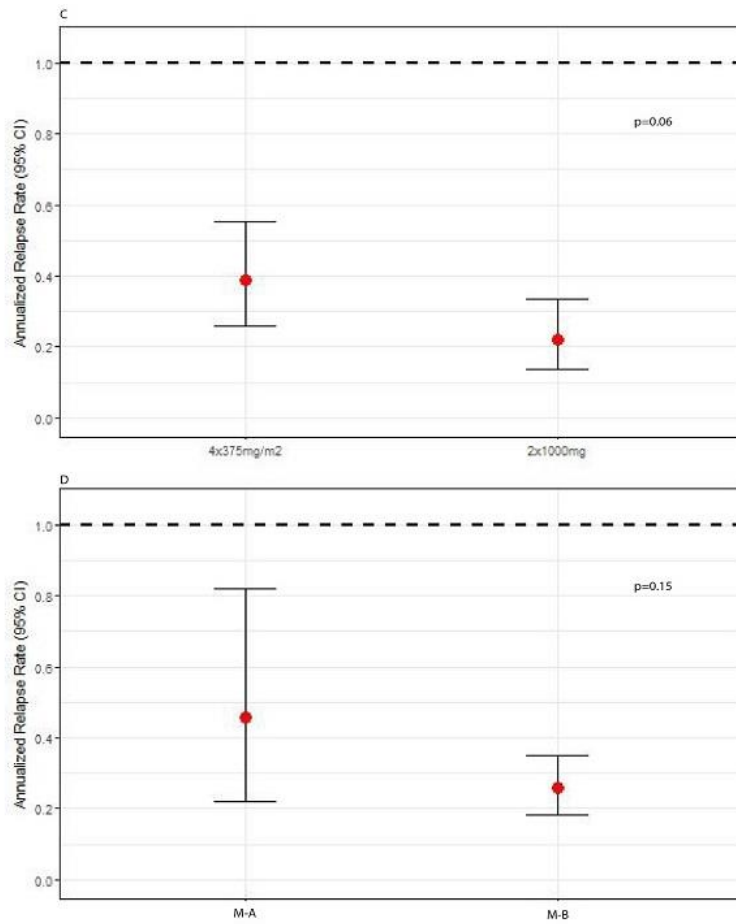
Figura 13: ARR e TTFR a 2 anni in base al numero di recidive nell'anno precedente la prima induzione RTX (pannelli A ed E), alla storia del trattamento del paziente (pannelli B e F), ai regimi di induzione (pannelli C e G) e ai regimi di manutenzione (pannelli D e H). ARR: tasso annualizzato di recidiva; TTFR: tempo per prima ricaduta; HR: rapporto di rischio; CI: intervalli di confidenza. Nei pannelli da A a D i valori p sono stati ottenuti da un modello di regressione di Poisson con il numero di recidive nell'anno precedente la prima induzione RTX come unico fattore (pannello A), la storia del trattamento del paziente come unico fattore (pannello B), i regimi di induzione come unico fattore (pannello C) e ai regimi di mantenimento come unico fattore (pannello D). Nei pannelli da E a G, sono state rappresentate le curve di Kaplan – Meier e sono stati riportati gli HR e i valori p del test Log-rank.

Figura 13: Panel A e B*



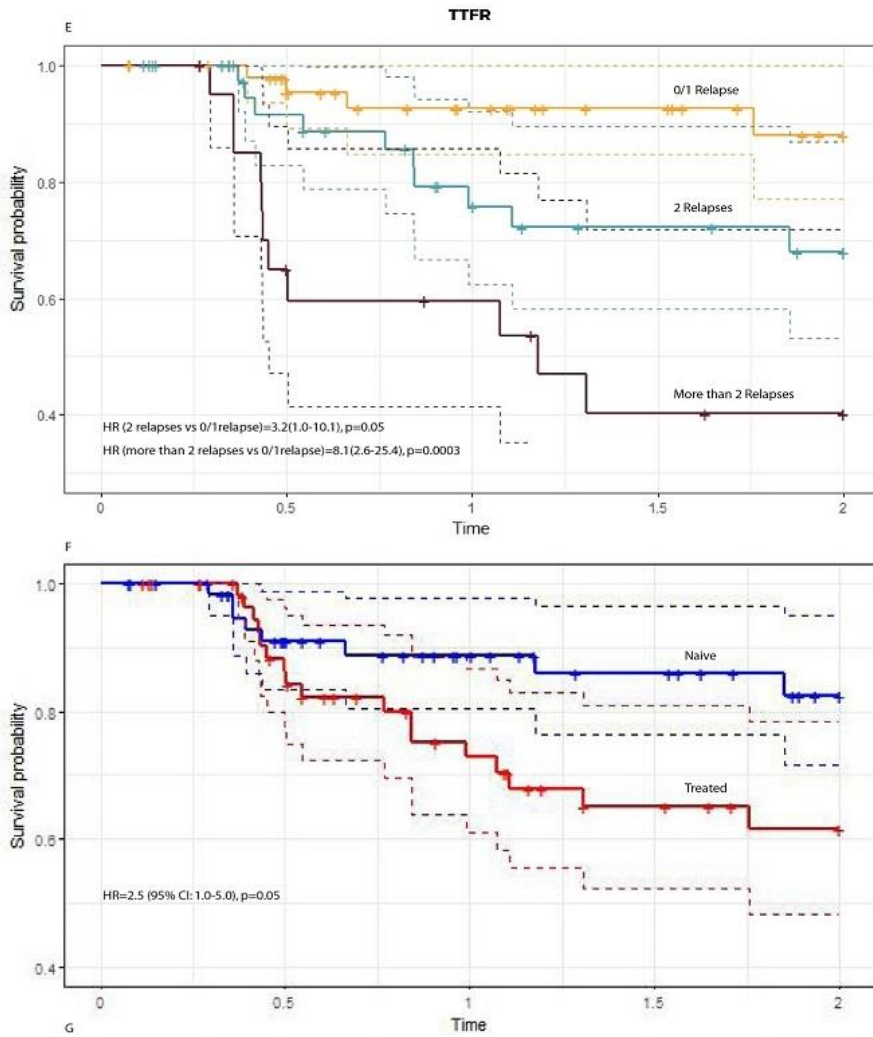
*Fattori associati ad un elevato ARR durante il trattamento

Figura 13: Panel C e D*



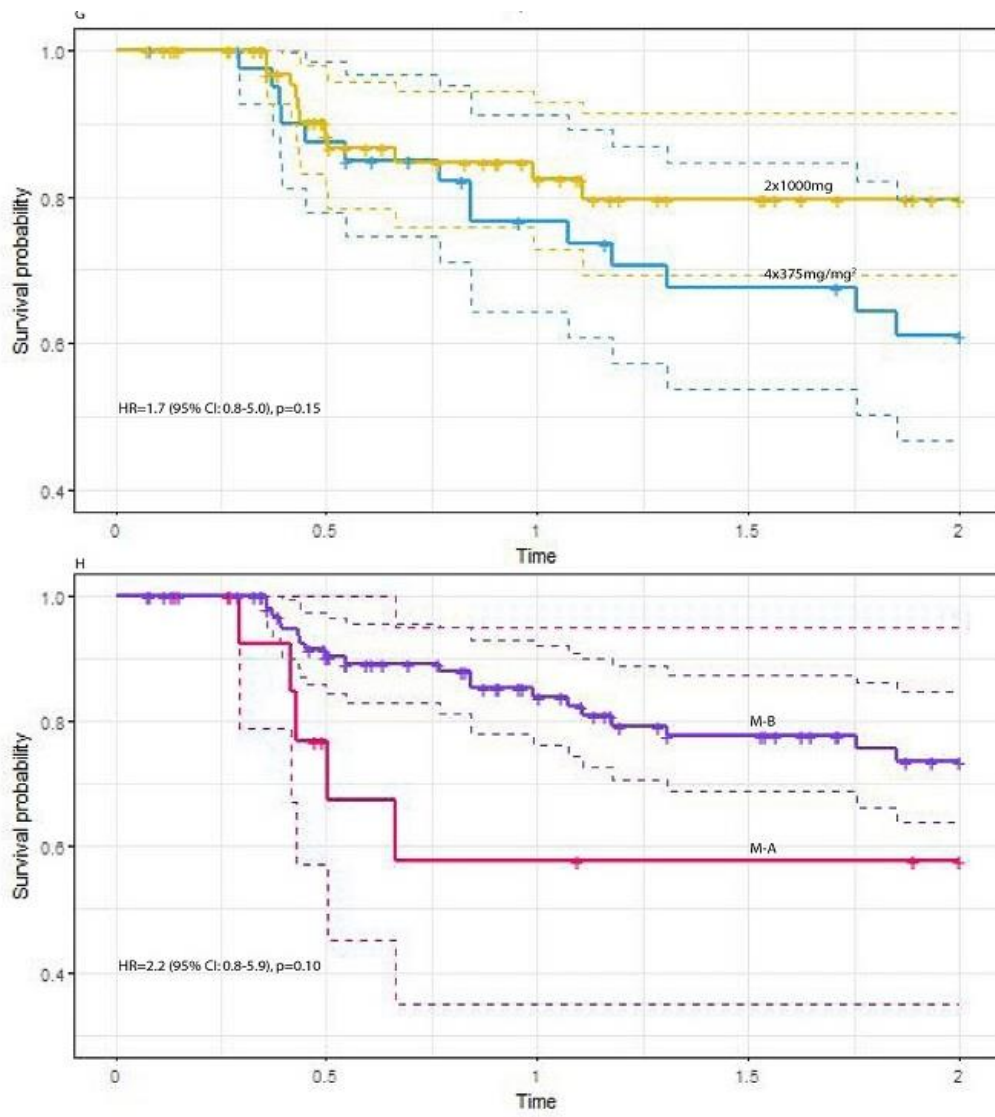
*Impatto del regime di trattamento sull'ARR

Figura 13: Panel E e F*



*L'analisi univariata ha mostrato che gli stessi fattori associati a un ARR più elevato lo erano significativamente al TFR su un periodo di 2 anni

Figura 13: Panel G e H*



*Regimi di trattamento

7– Safety

Abbiamo riportato tutti gli eventi avversi (AE): definiti come evento medico sfavorevole durante il trattamento, anche senza una relazione causale con il trattamento, e reazioni correlate all'infusione (IRR), definite come qualsiasi evento avverso che si verifica durante le infusioni ospedaliere RTX.

Un AE è stato considerato "grave" se ha provocato uno dei seguenti risultati: morte, un evento avverso pericoloso per la vita, ospedalizzazione o prolungamento del paziente di ricovero in corso, un'incapacità persistente o significativa o interruzione sostanziale della capacità di condurre le normali funzioni della vita, o un'anomalia congenita / difetto alla nascita ⁶².

Le conclusioni sulla sicurezza di RTX sono state riepilogate, in M e NMO, in tabella 11.

Tabella 11: Riepilogo safety

Sclerosi Multipla

Su 414 pazienti che hanno completato il regime di induzione e di cui avevamo queste informazioni disponibili, 98 (23,7%) hanno subito almeno una IRR (principalmente eruzione cutanea, ipotensione, dispnea e nausea), 79 durante la prima infusione e 19 durante le infusioni successive. Tre di loro (3,1%) hanno sperimentato una IRR grave (2 ipotensione e 1 reazione allergica), le restanti IRR erano tutte di intensità lieve o moderata.

Tra i 317 pazienti con follow-up di almeno 6 mesi e dati disponibili sugli eventi avversi, 146 (46,1%) hanno sperimentato almeno un evento avverso lieve, 14 (4,4%) pazienti hanno sperimentato un AE moderato ed uno grave.

Le infezioni (in particolare respiratorie e infezioni del tratto urinario) erano gli AE più comuni riportati. Solo otto pazienti hanno interrotto la terapia a causa di AE (principalmente infezioni) e si è verificato un decesso a causa di neoplasia mediastinica.

Neuromielite ottica

Durante l'intero follow-up, 35 pazienti (29,4%) hanno sperimentato almeno una IRR (principalmente eruzione cutanea), mentre 4/35 pazienti (11,4%) hanno avuto esperienza di una IRR grave (eruzione cutanea, difficoltà respiratorie, sincope e neutropenia).

Ventiquattro pazienti (20,2%) hanno manifestato almeno un evento avverso e 8/24 pazienti (33,3%) hanno manifestato almeno un evento avverso grave. Infezioni del tratto urinario e infezioni respiratorie erano gli eventi avversi più comuni riportati nel nostro campione.

Tre pazienti (2,5%) sono deceduti per complicanze del NMOSD. Due di loro avevano seguito il regime IND-B e il regime M-B e uno di loro ha seguito il regime IND-A e l'M-A; nessuno di loro era naïve al trattamento.

Non sono stati segnalati casi di infezioni opportunistiche né casi di leucoencefalopatia multifocale progressiva, durante il follow-up.

8 - Analisi statistica

Abbiamo utilizzato i medesimi outcome sia per SM che per NMO.

Le analisi statistiche effettuate hanno confrontato ARR e TTFR, EDSS, come si vede dal riepilogo in tabella 12.

Tabella 12: Analisi Statistica

Sclerosi Multipla	Neuromielite ottica
<p>L'ARR pre e post RTX sono stati confrontati da un modello binomiale negativo ad effetto misto tenendo conto dell'analisi delle misure ripetute. Sono state utilizzate il binomio negativo e l'analisi di regressione di Cox per valutare l'influenza dei dati demografici, clinici e terapeutici e le caratteristiche del regime sui valori dell'outcome durante il follow-up.</p> <p>Le variabili raccolte al baseline erano età, sesso, malattia, durata dall'esordio, presenza di eventuali comorbidità e / o comorbidità autoimmuni, EDSS (valutato 6 mesi prima dell'inizio dell'RTX e all'inizio RTX), numero di ricadute nei 2 anni precedenti, presenza di lesioni attive sul cervello o sulla colonna vertebrale, risonanza magnetica nell'anno precedente RTX e precedenti trattamenti per la SM.</p> <p>Solo i fattori significativamente associati all'outcome nell'analisi univariata (con un valore $p < 0,05$) sono stati inclusi in un modello multivariato con una procedura graduale (p per inclusione $< 0,05$).</p>	<p>Le analisi di regressione di Poisson e Cox sono state utilizzate per valutare l'influenza dei dati al baseline e dei regimi di trattamento su ARR e TTFR rispettivamente. È stato analizzato il TTFR nei primi 2 anni dopo l'inizio di RTX.</p> <p>Le variabili al baseline incluse nei modelli erano l'età all'esordio di malattia, sesso, durata della malattia, presenza di eventuali comorbidità e comorbidità autoimmuni, EDSS, auto ab sero-status, numero di recidive nell'anno precedente, risonanza magnetica attiva e presenza di lesioni del midollo spinale nell'anno pre-RTX e trattamenti precedenti.</p> <p>Solo i fattori significativamente associati all'outcome nell'analisi univariata (con un valore $p < 0,05$) sono stati inclusi in un modello multivariato con una procedura graduale (p per inclusione $< 0,05$).</p>

Conclusioni

Sclerosi Multipla

Rituximab ha dimostrato di essere efficace e relativamente sicuro nel trattamento della SM sia nel contesto di fase II ^{2,59,62-64} che in alcuni studi osservazionali ^{5,55-56,65}.

Abbiamo riportato qui i risultati provenienti da una vasta popolazione di pazienti affetti da SM caucasici trattati con RTX nel contesto della pratica clinica, di cui oltre 350 RRMS e progressivi.

Durante il trattamento con RTX (media: 1.9 anni), il tasso medio di ricaduta è stato significativamente ridotto nei pazienti con RRMS.

Ciò è in linea con i risultati forniti dallo studio di fase II che mostra un ARR diminuito in pazienti trattati con RTX rispetto al gruppo placebo, nei pazienti con SMRR ².

Diversi studi osservazionali hanno anche dimostrato l'effetto favorevole di RTX sulle ricadute: il numero di pazienti che hanno avuto recidive erano 3/82 su una mediana (intervallo interquartile) di follow-up di 1,5 (1,0-2,5) anni, ⁵⁶ 59/822 in media (deviazione standard (SD)) follow-up di 21,8 (14,3) mesi, ⁵ e 15/89 su un follow-up medio di 22,2 (24,8) mesi ⁶⁶. Questo benefico effetto sulle ricadute era evidente anche nei sottotipi di SM progressiva, corrispondenti al 47,6%, 32,2% e 33,7% dei pazienti inclusi nei suddetti studi e al 42,9% della nostra popolazione. Da notare, se analizzati separatamente, pazienti con PPMS hanno mostrato ARR invariato dopo l'inizio del trattamento con RTX rispetto agli anni precedenti, probabilmente questo riflette l'esiguo numero di eventi in questo piccolo gruppo.

Se analizzato in base ai periodi di trattamento di tre mesi, l'ARR è progressivamente diminuito durante il primo e secondo trimestre di terapia e si è stabilizzato in seguito. Ciò è coerente con i risultati dello studio di fase II, che mostra che nei pazienti con RRMS l'ARR era significativamente diminuito a 24 settimane dopo l'inizio di terapia con RTX rispetto al placebo (0,37 vs 0,84, $p = 0,04$) ed era rimasto su valori simili nel braccio RTX. In particolare, gli studi OPERA ³ che valutano l'efficacia e la sicurezza di Ocrelizumab dimostrano la quasi completa soppressione delle lesioni captanti GD + 6 mesi dopo l'inizio del trattamento. Nel complesso, questi risultati suggeriscono che

considerare il re-baseline clinico e /o radiologico a questo punto, sembra una strategia ragionevole per stimare in modo completo l'efficacia dei composti anti-CD20.

L'analisi dei fattori che prevedono una maggiore attività di ricaduta sotto RTX indica le ricadute durante il pretrattamento come principale predittore. TTFR è stato ritardato per quei pazienti che ricevono un regime di induzione di due infusioni da 1000 mg a distanza di 15 giorni rispetto ad altri protocolli di induzione, essendo forse questo risultato influenzato dal numero relativamente basso di pazienti. In uno studio di Yamouth et al., il regime di induzione con RTX a

2000 mg era associato a nessuna evidenza di attività di malattia ⁶⁶. Nessun ulteriore studio ha confrontato in maniera specifica l'uso di uno standard (ad esempio RTX 2000 mg) rispetto al protocollo di induzione personalizzato. È interessante notare che diversi regimi di mantenimento (cioè fisso vs citofluorimetrico based) non erano associati con ARR o TTFR nella nostra analisi, essendo questo risultato in linea con Salzer et al., che non mostra alcuna differenza nelle recidive cliniche e attività di risonanza magnetica tra pazienti con SM che ricevono <750 vs> 750 mg in ciascuna infusione RTX di mantenimento ⁵.

Mancando nei nostri e in altri studi osservazionali i gruppi di controllo ^{5,56,66} non è possibile stimare se RTX produce benefici sulla progressione della disabilità, uno studio pubblicato di recente suggerisce un vantaggio di RTX su nessuna o altre opzioni terapeutiche nella prevenzione della progressione della disabilità nella SPMS ⁶³. Inoltre, rispetto al placebo, RTX ha ridotto la progressione di disabilità in sottogruppi specifici di PPMS trattati nell'ambito di uno studio di fase II / III, ovvero, soggetti di età <51 anni con lesioni GD + a MRI cerebrale ¹. Anche questo è in linea con i risultati dello studio ORATORIO che mostra i benefici di Ocrelizumab rispetto al placebo nel prevenire la progressione della disabilità in PPMS ⁴. Gli eventi avversi osservati sotto RTX erano all'interno dell'intervallo previsto, riguardante principalmente IRR e infezioni. Analogamente ad altre coorti di osservazione ^{5,56,66}, sia gli eventi avversi correlati all'infusione e quelli non correlati si verificano in circa un quarto dei pazienti ciascuno e raramente sono stati segnalati come gravi. Queste cifre erano maggiori durante lo studio di fase II ², probabilmente perché riflettono differenze di popolazione e disegno dello studio.

Il nostro studio ha diversi limiti. I più importanti sono: il design retrospettivo e l'assenza di gruppo di controllo. Tuttavia, i dati sono stati raccolti in modo prospettico all'interno di database o registri locali e questo mitiga parzialmente il rischio di errori di

segnalazione. Inoltre, abbiamo potuto raccogliere i dati di MRI solo in una percentuale limitata di pazienti con tempistiche eterogenee, precludendo così una più solida descrizione radiologica del nostro campione. Il numero limitato di pazienti che vengono sottoposti ad uno specifico regime (di induzione o mantenimento) preclude la possibilità di conclusioni definitive sul protocollo di trattamento più appropriato.

Nel complesso, il nostro studio si aggiunge alla letteratura pubblicata, confermando che RTX è efficace e relativamente sicuro nel trattamento della sclerosi multipla.

Neuromielite ottica

In questo ampio studio osservazionale condotto in 23 centri italiani e 1 svizzero, abbiamo confermato l'efficacia di RTX nella prevenzione degli attacchi nei pazienti con NMOSD.

Le caratteristiche demografiche e cliniche dei pazienti arruolati sono in linea con la letteratura, che mostra un'alta prevalenza di donne tra i pazienti NMOSD, spesso con comorbilità autoimmuni (principalmente tiroidite autoimmune, diabete di tipo 1, etc.) e con maggiore età di insorgenza della malattia, rispetto alla popolazione prototipica di SM ⁶⁷. Noi abbiamo anche dimostrato che un'alta percentuale di pazienti presenta ab anti-AQ4 e che una minoranza di pazienti (paragonabile agli articoli pubblicati (Hamid et al., 2017) ⁶⁸) sono risultati positivi ad anti-MOG ab. Nel nostro studio la frequenza degli attacchi e il TTFR durante la terapia RTX sembrava essere influenzato dai regimi di trattamento: il regime di induzione delle due infusioni da 1000 mg 15 giorni di distanza ha mostrato una migliore performance rispetto al regime che prevede quattro infusioni da 375 mg / m² ogni settimana per 4 settimane.

Tali risultati sono in linea con un precedente studio italiano ⁵¹, in cui il regime IND-A ha dimostrato di essere più efficace nel ridurre l'attività della malattia, con risultati che hanno raggiunto la significatività statistica. Nel nostro studio abbiamo osservato solo una tendenza che favorisce l'IND-A, anche se la dimensione del campione era maggiore. Forse, tale discrepanza è dovuta ad una maggiore attività di malattia nei pazienti arruolati nello studio del 2016 (es.: ARR nell'anno precedente RTX 2,3 ± 1,3 contro 1,7 + 1,0 del presente studio).

L'analisi del regime di mantenimento ha mostrato una migliore performance dei regimi di reinfusione Cytofluorimetric based vs. la reinfusione al tempo fisso, anche se le

associazioni non hanno raggiunto significatività statistica. In particolare, il protocollo di reinfusione basato su CD27 + memoria B ha mostrato una performance molto buona, senza ricadute osservate nel sottogruppo sottoposto a questo regime. Inoltre, come precedentemente mostrato ⁶⁹, i pazienti trattati secondo questo protocollo avevano una frequenza di infusioni inferiore rispetto agli altri gruppi, con intervalli di infusione più lunghi e dosaggio di infusione inferiore (e possibilmente costi ridotti).

Un follow-up clinico breve potrebbe rappresentare il limite principale dello studio. Tuttavia, se la nostra osservazione sarà confermata in coorti con una durata di follow-up più lunga, potrebbe diventare rilevante nella scelta del regime per il trattamento dei pazienti NMOSD.

Il tasso di ricaduta più elevato osservato nel gruppo MR-A è inaspettato poiché, in tali gruppi, le infusioni erano più frequenti e con maggiore dosaggio. Probabilmente, la cinetica nel ripopolamento delle cellule B (ad esempio, espressione di CD20 +) e nell'eliminazione di RTX potrebbe spiegare la diversa efficacia.

Si raccomanda l'uso di schemi di terapie su misura per ottimizzare l'efficacia del trattamento, ridurre i possibili effetti collaterali e limitare i costi del trattamento. In questo contesto, un regime di mantenimento su misura basato sulla ricomparsa dei linfociti B della memoria CD27 sembra essere in grado di ottimizzare l'efficacia di RTX, senza aumentare gli effetti collaterali correlati al trattamento e possibilmente ridurre i costi relativi al trattamento (grazie ad un intervallo di infusione più elevato e dosaggio inferiore). Inoltre, può essere consigliato l'uso di IND-A invece di IND-B al fine di ridurre la dose cumulativa di RTX e ridurre ulteriormente i costi relativi al trattamento.

Abbiamo anche dimostrato che i pazienti naïve al trattamento performavano meglio dei pazienti già trattati. Questo risultato potrebbe essere spiegato da due fattori: in primo luogo, è già stato segnalato che alcune terapie approvate per la SM (ad es. Fingolimod o Natalizumab) potrebbero indurre a esplosione paradossale nell'attività della malattia in NMOSD ⁷⁰⁻⁷¹ ma non è noto se gli effetti diminuiscano dopo l'interruzione della terapia. In secondo luogo, potrebbe essere applicato un pregiudizio di selezione, i pazienti che sono passati a RTX da altro trattamento potrebbero avere un'attività al baseline più elevata rispetto ai pazienti naïve. Infine, pazienti NMOSD di vecchia data (o che non sono naïve al trattamento) potrebbero sperimentare una maggiore attività della malattia a causa della modifica in fisiopatologia della malattia (ad es. diffusione di epitopo o produzione di lunga vita plasmablasti che non esprimono la molecola CD20).

L'efficacia di RTX in presenza di anti-MOG ab non è stata ancora confrontata con la tipica popolazione NMOSD (anti-AQ4 positiva o doppia sieronegativa).

Nel nostro campione abbiamo riscontrato una tendenza verso una maggiore efficacia di RTX in pazienti doppio sieronegativi e una ridotta efficacia nei pazienti MOG ab positivi. Tuttavia, sia nell'analisi univariata che nella multivariata le associazioni non erano statisticamente significative, anche a causa del numero limitato di pazienti di questi due sottogruppi.

Infine, è della massima importanza che non si sia verificato nessun evento avverso associato al trattamento o ai diversi protocolli di trattamento. Inoltre, non è stato segnalato nessun caso di infezioni opportunistiche, leucoencefalopatia multifocale progressiva, confermando la sicurezza delle terapie di deplezione di CD20 nella popolazione NMOSD.

APPENDICE A

Criteria di McDonald

Nel 2001 viene pubblicato il primo articolo nel quale vengono proposti criteri diagnostici per la SM, tali criteri prendono il nome dall'autore principale.⁶⁻⁷ Abbiamo riportato nella figura 14 i criteri per la diagnosi di SM in pazienti con episodio all'esordio.

Figura 14 Criteri di Mc Donald

Number of lesions with objective clinical evidence		Additional data needed for a diagnosis of multiple sclerosis
≥2 clinical attacks	≥2	None*
≥2 clinical attacks	1 (as well as clear-cut historical evidence of a previous attack involving a lesion in a distinct anatomical location†)	None*
≥2 clinical attacks	1	Dissemination in space demonstrated by an additional clinical attack implicating a different CNS site or by MRI‡
1 clinical attack	≥2	Dissemination in time demonstrated by an additional clinical attack or by MRI§ OR demonstration of CSF-specific oligoclonal bands¶
1 clinical attack	1	Dissemination in space demonstrated by an additional clinical attack implicating a different CNS site or by MRI‡ AND Dissemination in time demonstrated by an additional clinical attack or by MRI§ OR demonstration of CSF-specific oligoclonal bands¶

If the 2017 McDonald Criteria are fulfilled and there is no better explanation for the clinical presentation, the diagnosis is multiple sclerosis. If multiple sclerosis is suspected by virtue of a clinically isolated syndrome but the 2017 McDonald Criteria are not completely met, the diagnosis is possible multiple sclerosis. If another diagnosis arises during the evaluation that better explains the clinical presentation, the diagnosis is not multiple sclerosis. An attack is defined in panel 1. *No additional tests are required to demonstrate dissemination in space and time. However, unless MRI is not possible, brain MRI should be obtained in all patients in whom the diagnosis of multiple sclerosis is being considered. In addition, spinal cord MRI or CSF examination should be considered in patients with insufficient clinical and MRI evidence supporting multiple sclerosis, with a presentation other than a typical clinically isolated syndrome, or with atypical features. If imaging or other tests (eg, CSF) are undertaken and are negative, caution needs to be taken before making a diagnosis of multiple sclerosis, and alternative diagnoses should be considered. †Clinical diagnosis based on objective clinical findings for two attacks is most secure. Reasonable historical evidence for one past attack, in the absence of documented objective neurological findings, can include historical events with symptoms and evolution characteristic for a previous inflammatory demyelinating attack; at least one attack, however, must be supported by objective findings. In the absence of residual objective evidence, caution is needed. ‡The MRI criteria for dissemination in space are described in panel 5. §The MRI criteria for dissemination in time are described in panel 5. ¶The presence of CSF-specific oligoclonal bands does not demonstrate dissemination in time per se but can substitute for the requirement for demonstration of this measure.

Table: The 2017 McDonald criteria for diagnosis of multiple sclerosis in patients with an attack at onset

Riepilogo tabelle

Tabella 1 - Expanded Disability Status Scale

Tabella 2: Criteri della neuromielite ottica

Tabella 3: Criteri di Neuromyelitis Optica Spectrum Disorder (NMOSD) del 2015

Tabella 4: Pazienti SM arruolati

Tabella 5: DMT pre RTX

Tabella 6: Pazienti NMO arruolati

Tabella 7: AB-sero status

Tabella 8: Protocolli di Induzione

Tabella 9: Protocolli di Mantenimento

Tabella 10: Fattori associati ad ARR

Tabella 11: Riepilogo safety

Tabella 12: Analisi Statistica

Riepilogo Figure

Figura 1: CRF per i dati demografici e dati al baseline

Figura 2: CRF per i dati di induzione di Rituximab

Figura 3: CRF per i dati di Follow up

Figura 4: CRF DEMOGRAFICHE E CLINICHE BASALE NMO

Figura 5: CRF FOLLOW UP NMO

Figura 6: Definizione di ricaduta

Figura 7: centri SM coinvolti

Figura 8: centri NMO coinvolti

Figura 9: Progressione EDSS

Figura 10: A ARR nei due anni pre rituximab, nell'anno pre rituximab e nei due anni post rituximab

Figura 11: Figura 11: Tendenza di ARR nei 2 anni e nell'anno pre rituximab e 2 anni post rituximab.

Figura 12: Grafico di Kaplan-Meier per il rischio di progressione confermata dell'EDSS durante il trattamento con rituximab nell'arco di 3 anni.

Figura 13: ARR e TTFR a 2 anni in base al numero di recidive nell'anno precedente la prima induzione RTX (pannelli A ed E), alla storia del trattamento del paziente (pannelli B e F), ai regimi di induzione (pannelli C e G) e ai regimi di manutenzione (pannelli D e H). ARR: tasso annualizzato di recidiva; TTFR: tempo per prima ricaduta; HR: rapporto di rischio; CI: intervalli di confidenza. Nei pannelli da A a D i valori p sono stati ottenuti da un modello di regressione di Poisson con il numero di recidive nell'anno precedente la prima induzione RTX come unico fattore (pannello A), la storia del trattamento del paziente come unico fattore (pannello B), i regimi di induzione come unico fattore (pannello C) e ai regimi di mantenimento come unico fattore (pannello D). Nei pannelli da E a G, sono state rappresentate le curve di Kaplan – Meier e sono stati riportati gli HR e i valori p del test Log-rank.

Figura 14: Criteri di McDonald 2017

Abbreviazioni e acronimi

9HPT	9 Hole Peg Test
AE	Adverse event
AIFA	Agenzia Italiana del Farmaco
AISM	Associazione Italiana Sclerosi Multipla
AQP4	Acquaporina 4
ARR	Annualized relapse rate
BEE	Barriera emato-encefalica
CL	Cortical lesion
EMA	European Medicines Agency
CRF	Case report form
DINOGLMI	Dipartimento di Neuroscienze, riabilitazione, oftalmologia, genetica e scienze materno-infantili
FDA	Food and Drug Administration
GM	Grey Matter
IRR	Infusion-related reaction
JVC	John Cunningham Virus
LCS	Liquido cerebrospinale
MATLE	Mielite acuta trasversa longitudinale estesa
MOG	Glicoproteina mielinica degli oligodendrociti
MRI	Magnetic Resonance Imaging
MSFC	Multiple Sclerosis Functional Coposite
NORB	Neurite ottica retrobulbare
NMO	Neuromielite ottica
NMOSD	Neuromyelitis optica spectrum disorder
PASAT	Paced Auditory Serial Addition Test
RM	Risonanza magnetica
SSN	Servizio Sanitario Nazionale
T25FW	Timed 25-Foot Walk
TTFR	Time to first relapse
VA	Visual acuity
WM	White Matter

Allegato A - PUBBLICAZIONI

Tailoring B cell depletion therapy in MS according to memory B cell monitoring.

Novi G, Bovis F, Fabbri S, Tazza F, Gazzola P, Maietta I, Currò D, Bruschi N, Roccatagliata L, Boffa G, Lapucci C, Pesce G, Cellerino M, Solaro C, Laroni A, Capello E, Mancardi G, Sormani M, Inglese M, Uccelli A.

Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm. 2020 Aug 4;7(5): e845. doi: 10.1212/NXI.0000000000000845. Print 2020 Sep.

Efficacy of different rituximab therapeutic strategies in patients with neuromyelitis optica spectrum disorders.

Novi G, Bovis F, Capobianco M, Frau J, Mataluni G, Curti E, Zuliani L, Cavalla P, Brambilla L, Annovazzi P, Repice AM, Lanzillo R, Esposito S, Benedetti L, Maietta I, Sica F, Buttari F, Malucchi S, Fenu G, Landi D, Bosa C, Realmuto S, Malentacchi M, Granella F, Signori A, Bonavita S, Uccelli A, Sormani MP; iMUST group.

Mult Scler Relat Disord. 2019 Nov; 36:101430. doi: 10.1016/j.msard.2019.101430. Epub 2019 Oct 4.

Treatment of multiple sclerosis with rituximab: A multicentric Italian-Swiss experience.

Zecca C, Bovis F, Novi G, Capobianco M, Lanzillo R, Frau J, Repice AM, Hakiki B, Realmuto S, Bonavita S, Curti E, Brambilla L, Mataluni G, Cavalla P, Di Sapio A, Signoriello E, Barone S, Maniscalco GT, Maietta I, Maraffi I, Boffa G, Malucchi S, Nozzolillo A, Coghe G, Mechi C, Salemi G, Gallo A, Sacco R, Cellerino M, Malentacchi M, De Angelis M, Loreface L, Magnani E, Prestipino E, Sperli F, Brescia Morra V, Fenu G, Barilaro A, Abbadessa G, Signori A, Granella F, Amato MP, Uccelli A, Gobbi C, Sormani MP.

Mult Scler. 2019 Oct 1:1352458519872889. doi: 10.1177/1352458519872889. Online ahead of print.

Expanded disability status scale progression assessment heterogeneity in multiple sclerosis according to geographical areas.

Bovis F, Signori A, Carmisciano L, Maietta I, Steinerman JR, Li T, Tansy AP, Sormani MP.

Ann Neurol. 2018 Oct;84(4):621-625. doi: 10.1002/ana.25323. Epub 2018 Oct 4.

Long-term impact of interferon or Glatiramer acetate in multiple sclerosis: A systematic review and meta-analysis.

Signori A, Gallo F, Bovis F, Di Tullio N, Maietta I, Sormani MP.

Mult Scler Relat Disord. 2016 Mar; 6:57-63. doi: 10.1016/j.msard.2016.01.007. Epub 2016 Feb 2. Review.

Bibliografia

1. Hawker K, O'Connor P, Freedman MS, et al. Rituximab in patients with primary progressive multiple sclerosis: Results of a randomized double-blind placebo-controlled multicentre trial. *Ann Neurol* 2009; 66:460-471.
2. Hauser SL, Waubant E, Arnold DL, et al. B-cell depletion with Rituximab in relapsing-remitting multiple sclerosis. *N Engl J Med* 2008; 358: 676-688.
3. Hauser SL, Bar-Or A, Comi G, et al. Ocrelizumab versus Interferon Beta-1a in Relapsing Multiple Sclerosis. *N Engl J Med* 2017; 376: 221-234.
4. Montalban X, Hauser SL, Kappos L, et al. Ocrelizumab versus Placebo in Primary Progressive Multiple Sclerosis. *N Engl J Med* 2017; 376: 209-220.
5. Salzer J, Svenningsson R, Alping P, et al. Rituximab in multiple sclerosis. A retrospective observational study on safety and efficacy. *Neurology* 2016; 871: 1-8.
6. McDonald WI, Compston A, et al. Recommended diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines from the International Panel on the diagnosis of multiple sclerosis. *Ann Neurol* 2001; 50: 121-7
7. Thompson AJ, Banwell BL, Barkhof F, et al. Diagnosis of multiple sclerosis: 2017 revisions of the McDonald criteria. *Lancet Neurol.* 2017 Dec 21. pii: S1474-4422(17)30470-2. doi: 10.1016/S1474-4422(17)30470-2. [Epub ahead of print] Review.
8. Poser CM, Paty DW, et al. New diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines for research protocols. *Ann Neurol* 1983; 13: 227-31
9. The IFNB Multiple Sclerosis Study Group. Interferon beta- 1b is effective in Relapsing–Remitting Multiple Sclerosis. I. Clinical results of a multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Neurology* 1993; 43: 655–61.
10. Johnson KP, Brooks BR, et al. Copolymer 1 reduces relapse rate and improves disability in Relapsing–Remitting Multiple Sclerosis: Results of a phase III multicenter, double-blind placebo-controlled trial. *Neurology* 1995; 45: 1268–1276.
11. Jacobs LD, Cookfair DL, et al. Intramuscular interferon beta-1a for disease progression in relapsing multiple sclerosis. *Ann Neurol* 1996; 39: 285–294.
12. PRISMS (Prevention of Relapses and Disability by Interferon beta-1a Subcutaneously in Multiple Sclerosis) Study Group. Randomised double-blind

placebo-controlled study of interferon beta-1a in Relapsing–Remitting Multiple Sclerosis. *Lancet* 1998; 352: 1498–1504.

13. Polman CH, O'Connor PW, et al. A randomized, placebo controlled trial of natalizumab for relapsing multiple sclerosis. *NEJM* 2006; 354: 899–910.
14. Kappos L, Radue EW, et al. A placebo-controlled trial of oral fingolimod in relapsing multiple sclerosis. *NEJM* 2010; 362: 387–401.
15. Kurtzke JF. Rating neurological impairment in multiple sclerosis: an expanded disability status scale (EDSS). *Neurology* 1983; 33: 1444-52
16. Filippi M, Horsfield MA, et al. Guidelines for using quantitative measures of brain magnetic resonance imaging abnormalities in monitoring the treatment of multiple sclerosis. *Ann Neurol* 1998; 4: 499-506
17. Geurts JJ and Barkhof F. Grey matter pathology in multiple sclerosis. *Lancet Neurol* 2008; 7: 841–851.
18. Stadelmann C, Albert M, et al. Cortical pathology in multiple sclerosis. *Curr Opin Neurol* 2008; 21: 229–234.
19. Geurts JJ, Rosendaal SD, et al. Consensus recommendations for MS cortical lesion scoring using double inversion recovery MRI. *Neurology* 2011; 76: 418–424.
20. Calabrese M, De Stefano N, et al. Detection of cortical inflammatory lesions by double inversion recovery magnetic resonance imaging in patients with multiple sclerosis. *Arch Neurol* 2007; 64: 1416–1422.
21. Calabrese M, Filippi M and Gallo P. Cortical lesions in multiple sclerosis. *Nat Rev Neurol* 2010; 6: 438–444.
22. Fisher JS, Rudick RA, Cutter GR, Reingold SC. The Multiple Sclerosis Functional Composite measure (MSFC): an integrated approach to MS clinical outcome assessment. *Mult. Scler.* 1999 Aug; 5(4):244-50.
23. Goodkin D, Hertsgaard D, Seminary J. Upper extremity function in multiple sclerosis: Improving assessment sensitivity with Box-and-Block and 9-Hole Peg Tests. *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation*, 69:850–854.

24. Whitaker, J. N., McFarland, H. F., Rudge, P., & Reingold, S. C. (1995). Outcomes assessment in multiple sclerosis clinical trials: a critical analysis. *Multiple Sclerosis*, 1:37–47.
25. Balcer LJ, Baier ML, Cohen JA, Kooijmans MF, Sandroock AW, Nano-Schiavi ML, Pfohl DC, Mills M, Bowen J, Ford C, Heidenreich FR, Jacobs DA, Markowitz CE, Stuart WH, Ying G-S, Galetta SL, Maguire MG, Cutter GR: Contrast letter acuity as a visual component for the Multiple Sclerosis Functional Composite. *Neurology*. 2003, 61: 1367-1373.
26. Rannou F, Poiraudeau S, Berezné A, Baubet T, Le-Guern V, Cabane J, Guillevin L, Revel M, Fermanian J, Mouthon L. Assessing disability and quality of life in systemic sclerosis: construct validities of the Cochin Hand Function Scale, Health Assessment Questionnaire (HAQ), Systemic Sclerosis HAQ, and Medical Outcomes Study 36-Item Short Form Health Survey. *Arthritis Rheum*. 2007 Feb 15; 57(1):94-102.
27. Trojano M, Pellegrini F, Fuiani A, Paolicelli D, Zipoli V, Zimatore GB, et al., 2007. New natural history of interferon-beta-treated relapsing multiple sclerosis. *Ann. Neurol*. 61, 300–306.
28. Trojano M, Pellegrini F, Paolicelli D, Fuiani A, Zimatore GB, Tortorella C, et al., 2009. Real-life impact of early interferon beta therapy in relapsing multiple sclerosis. *Ann. Neurol*. 66,513–520.
29. Tedeholm H, Lycke J, Skoog B, Lisovskaja V, Hillert J, Dahle C, et al., 2013. Time to secondary progression in patients with multiple sclerosis who were treated with first generation immunomodulating drugs. *Mult. Scler*. 19,765–774.
30. Shirani A, Zhao Y, Karim ME , Evans C, Kingwell E, van der Kop ML ,et al., 2012. Association between use of interferon beta and progression of disability in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis. *JAMA* 308,247–256.
31. Zhang T, Shirani A, Zhao Y, Karim ME, Gustafson P, Petkau J, et al., 2015. Beta- interferon exposure and onset of secondary progressive multiple sclerosis. *Eur. J. Neurol*. 22,990–1000.
32. Giovannoni G, Butzkueven H, Jalbut S, Hobart J, Kobelt G, Pepper G, Sormani MP et al. Brain health: time matters in multiple sclerosis. *Multiple Sclerosis and Related Disorders* , Volume 9 , S5 - S48
33. Rudick RA, Stuart WH, Calabresi PA, Confavreux C, Galetta SL, Radue EW, et al., 2006. Natalizumab plus interferon beta-1 for relapsing multiple sclerosis. *N. Engl. J. Med*. 354,911–923.

34. Coles AJ, Compston DA, Selmaj KW, Lake SL, Moran S, Margolin DH, et al., 2008. Alemtuzumab vs. interferon beta-1a in early multiple sclerosis. *N. Engl. J. Med.* 359, 1786–1801.
35. Cohen JA, Barkhof F, Comi G, Hartung HP, Khatri BO, Montalban X, et al., 2010. Oral fingolimod or intramuscular interferon for relapsing multiple sclerosis. *N. Engl. J. Med.* 362, 402–415.
36. Cohen JA, Coles AJ, Arnold DL, Confavreux C, Fox EJ, Hartung HP, et al., 2012. Alemtuzumab versus interferon beta 1a as first-line treatment for patients with relapsing-remitting multiple sclerosis: a randomized controlled phase 3 trial. *Lancet* 380, 1819–1828.
37. Coles AJ, Fox E, Vladic A, Gazda SK, Brinar V, Selmaj KW, et al., 2012a. Alemtuzumab more effective than interferon beta-1a at 5-year follow-up of CAMMS223 clinical trial. *Neurology* 78, 1069–1078.
38. Coles AJ, Twyman CL, Arnold DL, Cohen JA, Confavreux C, Fox EJ, et al., 2012b. Alemtuzumab for patients with relapsing multiple sclerosis after disease-modifying therapy: a randomized controlled phase 3 trial. *Lancet* 380, 1829–1839.
39. O'Connor P, Wolinsky J.S, Confavreux C, Comi G, Kappos L, Olsson T.P, et al., 2011. Randomized trial of oral teriflunomide for relapsing multiple sclerosis. *N. Engl. J. Med.* 365, 1293–1303.
40. Fox R.J, Miller D.H, Phillips J.T, Hutchinson M, Havrdova E, Kita M, et al., 2012. Placebo-controlled phase 3 study of oral BG-12 or glatiramer in multiple sclerosis. *N. Engl. J. Med.* 367, 1087–1097.
41. Wingerchuk DM, Lennon VA, Pittock SJ, Lucchinetti CF, Weinshenker BG. Revised diagnostic criteria for neuromyelitis optica. *Neurology* 2006; 66:1485–9.
42. Wingerchuk DM. International consensus diagnostic criteria for neuromyelitis optica spectrum disorders. *Neurology* 2015; 85:177–89.
43. Ramanathan, S., Mohammad, S., Tantsis, E., et al., 2018. Clinical course, therapeutic responses and outcomes in relapsing MOG antibody-associated demyelination. *J. Neurol Neurosurg. Psychiatry* 89 (Feb (2)), 127–137.

44. Etemadifar M, Nasr Z, Khalili B, Taherioun M, Vosoughi R. Epidemiology of neuromyelitis optica in the world: a systematic review and meta-analysis. *Mult Scler Int* 2015;2015:174720.
45. Mealy MA, Wingerchuk DM, Greenberg BM, Levy M. Epidemiology of neuromyelitis optica in the United States: a multicenter analysis. *Arch Neurol* 2012;69:1176–80.
46. Blanco Y, Saiz A. HLA-DRB1 typing in Caucasian patients with neuromyelitis optica. *Rev Neurol* 2011;53:146–52.
47. Trebst C, Jarius S, Berthele A, et al., 2014. Update on the diagnosis and treatment of neuromyelitis optica: recommendations of the neuromyelitis optica study group (NEMOS). *J. Neurol* 261 (Jan (1)), 1–16.
48. Kim, S.H., Jeong, I.H., Hyun, J.W., et al., 2015. Treatment outcomes with Rituximab in 100 patients with neuromyelitis optica: influence of FCGR3A polymorphisms on the therapeutic response to rituximab. *JAMA Neurol* 72 (Sep (9)), 989–995 Sep.
49. Radaelli, M., Moiola, L., Sangalli, F., et al., 2016. Neuromyelitis optica spectrum disorders: long-term safety and efficacy of rituximab in caucasian patients. *Mult. Scler.* 22 (Apr (4)), 511–519.
50. Torres, J., Pruitt, A., Balcer, L., Galetta, S., Markowitz, C., Dahodwala, N., 2015. Analysis of the treatment of neuromyelitis optica. *J. Neurol Sci.* 351 (Apr (1–2)), 31–35 15.
51. Annovazzi, P., Capobianco, M., Moiola, L., et al., 2016. Rituximab in the treatment of neuromyelitis optica: a multicentre Italian observational study. *J. Neurol* 263 (Sep (9)), 1727–1735.
52. Damato, V., Evoli, A., Iorio, R., 2016. Efficacy and safety of rituximab therapy in neuromyelitis optica spectrum disorders: a systematic review and meta-analysis. *JAMA Neurol* 73 (Nov (11)), 1342–1348 01.
53. Kappos L, Li D, Calabresi PA, et al. Ocrelizumab in relapsing-remitting multiple sclerosis: A phase 2, randomised, placebo-controlled, multicentre trial. *Lancet* 2011;
54. Emery P, Rigby W, Tak PP, et al. Safety with ocrelizumab in rheumatoid arthritis: Results from the ocrelizumab phase III program. *PLoS ONE* 2014; 9(2): e87379
55. Alping P, Frisell T, Novakova L, et al. Rituximab versus fingolimod after natalizumab in multiple sclerosis patients. *Ann Neurol* 2016; 79(6): 950–958

56. Salzeri B, Disanto G, Sacco R, et al. Effectiveness and safety of rituximab in multiple sclerosis: An observational study from Southern Switzerland. *PLoS ONE* 2018; 13(5): e0197415.
57. Fleischmann RM. Safety of biologic therapy in rheumatoid arthritis and other autoimmune diseases: Focus on rituximab. *Semin Arthritis Rheum* 2009; 38(4): 265–280.
58. Memon A, Sriwastava S, Bao F, et al. Long-term safety of rituximab and peripheral B-cell depletion in multiple sclerosis and other CNS autoimmune disorders. *Neurology* 2014; 82(10 Suppl.): P2.223.
59. Kim SH, Huh SY, Lee SJ, et al. A 5-year follow-up of rituximab treatment in patients with neuromyelitis optica spectrum disorder. *JAMA Neurol* 2013; 70(9): 1110–1117.
60. Lindsey, J.W., Meulmester, K.M., Brod, S.A., Nelson, F., Wolinsky, J.S., 2012. Variable results after rituximab in neuromyelitis optica. *J. Neurol Sci.* 317 (Jun (1–2)), 103–105 15.
61. Nakashima, I., Takahashi, T., Cree, B.A., et al., 2011. Transient increases in anti-aquaporin-4 antibody titers following rituximab treatment in neuromyelitis optica, in association with elevated serum BAFF levels. *J. Clin. Neurosci.* 18 (Jul (7)), 997–998.
62. National Institute of Health. Common terminology criteria for adverse events (CTCAE), version 5.0. NHI Publication No. 09-5410, June 2010, https://evs.nci.nih.gov/ftp1/CTCAE/CTCAE_4.03/CTCAE_4.03_2010-06-14_QuickReference_5x7.pdf (accessed 20 August 2019).
63. Naegelin Y, Naegelin P, von Felten S, et al. Association of rituximab treatment with disability progression among patients with secondary progressive multiple sclerosis. *JAMA Neurol* 2019; 76: 274–281.
64. Naismith RT, Piccio L, Lyons JA, et al. Rituximab add-on therapy for breakthrough relapsing multiple sclerosis: A 52-week phase II trial. *Neurology* 2010; 74(23): 1860–1867.
65. Granqvist M, Borelmalm M, Poorghobad A, et al. Comparative effectiveness of rituximab and other initial treatment choices for multiple sclerosis. *JAMA Neurol* 2018; 75(3): 320–327.
66. Yamout BI, El-Ayoubi NK, Nicolas J, et al. Safety and efficacy of rituximab in multiple sclerosis: A retrospective observational study. *J Immunol Res* 2018; 2018: 9084759
67. Wingerchuk, D.M., Lennon, V.A., Lucchinetti, C.F., Pittock, S.J., Weinshenker, B.G., 2007. The spectrum of neuromyelitis optica. *Lancet Neurol* 6 (Sep (9)), 805–815.

68. Hamid, S.H.M., Whittam, D., Mutch, K., et al., 2017. What proportion of AQP4-IgG-negative NMO spectrum disorder patients are MOG-IgG positive? A cross sectional study of 132 patients. *J. Neurol* 264 (Oct (10)), 2088–2094
69. Cohen, M., Romero, G., Bas, J., et al., 2017. Monitoring CD27+ memory B-cells in neuromyelitis optica spectrum disorders patients treated with rituximab: results from a bicentric study. *J. Neurol Sci.* 373 (Feb), 335–338 15.
70. Min, J.H., Kim, B.J., Lee, K.H., 2012. Development of extensive brain lesions following fingolimod (FTY720) treatment in a patient with neuromyelitis optica spectrum disorder. *Mult. Scler.* 18 (Jan (1)), 113–115.
71. Jacob, A., Hutchinson, M., Elson, L., et al., 2012. Does natalizumab therapy worsen neuromyelitis optica? *Neurology* 79 (Sep (10)), 1065–1066 4.