

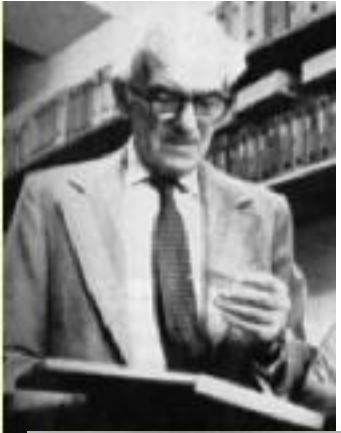
Storia di NGF e sue attuali applicazioni in oftalmologia



Dompé

Flavio Mantelli, MD, PhD
Chief Medical Officer

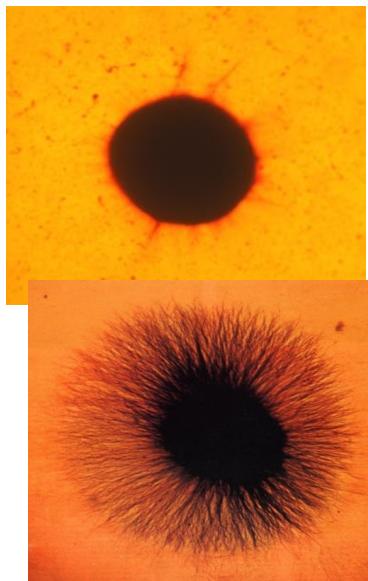
NGF: la storia di un'idea “rivoluzionaria”



- 1934 → Viktor Hamburger, eminente embriologo della Washington University (St. Louis) dimostra -utilizzando embrioni di pollo- che lo sviluppo del sistema nervoso è in qualche modo influenzato da segnali provenienti dai tessuti circostanti e in grado di indirizzare la differenziazione dei neuroni, la crescita delle fibre nervose e l'innervazione degli organi.
- 1946 → Dopo aver letto una pubblicazione di Rita Levi-Montalcini sulla morte neuronale negli embrioni di pollo, Hamburger la invita a raggiungerlo a St. Louis per continuare i suoi studi
- 1950 → Rita Levi-Montalcini dimostra che alcuni tipi cellulari rilasciano una “sostanza stimolante la crescita nervosa”, **infrangendo i principi fondanti dell’embriologia del tempo**, secondo i quali la differenziazione delle cellule era guidata esclusivamente dal programma genetico
- 1956 → Il biochimico Stanely Cohen si affianca a Rita Levi Montalcini nel laboratorio di St. Louis. In meno di un anno riescono ad isolare ed identificare una frazione nucleo-proteica in grado di stimolare la crescita nervosa, che veniva chiamata **Nerve Growth Factor, NGF**.



NGF: una molecola... da Nobel!



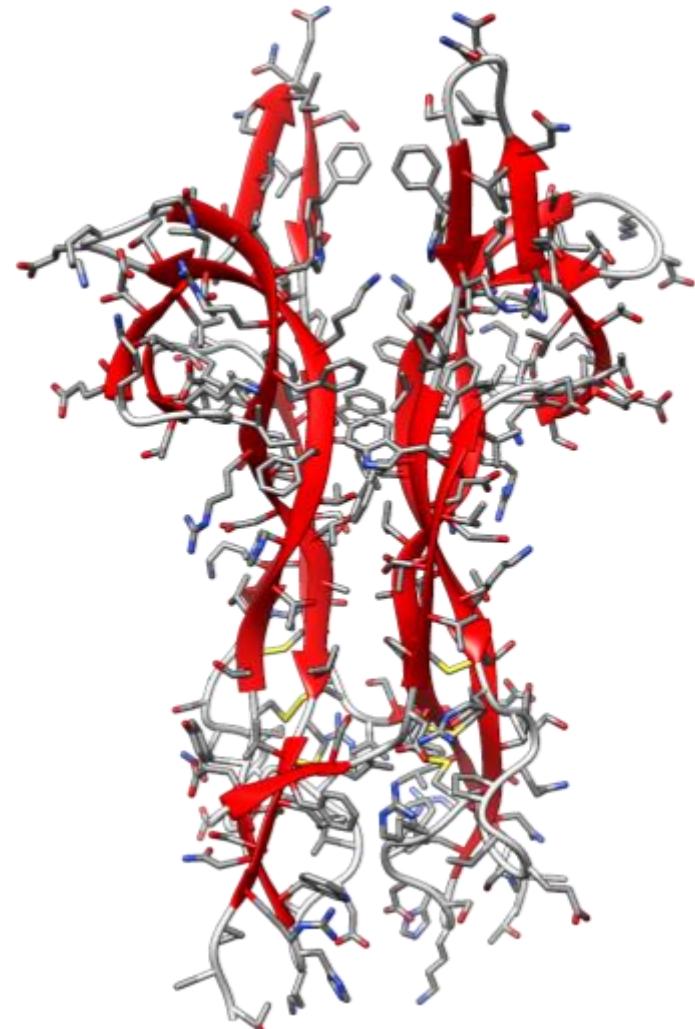
- 1958 → Viene scoperta una ricca sorgente di NGF nelle ghiandole sottomandibolari del topo, permettendo di condurre nuovi esperimenti per chiarire il ruolo di questa molecola nel normale sviluppo embriologico del sistema nervoso.
- 1959 → Viene dimostrato che l'NGF costituisce un fattore fondamentale nel normale sviluppo del sistema nervoso provando che l'inattivazione dell'NGF endogeno determina una marcata atrofia dei gangli simpatici.



- 1986 → Rita Levi-Montalcini e Stanley Cohen ricevono il premio Nobel per la medicina per la scoperta dell'NGF.

Nerve Growth Factor (NGF)

- NGF è una proteina endogena altamente conservata tra le diverse specie: elevata omologia tra NGF murino e umano
- Presenza ubiquitaria nel corpo umano
- 3 subunità (alfa, beta, gamma)
- Beta-NGF è la forma biologicamente attiva (118AA; 24kD)
- Solubile in acqua e olio
- Stabile a pH 5-8



Shooter EM, Annu Rev Neurosci, 2001

Ruolo pleiotropico dell'NGF

- NGF è presente in: sistema nervoso centrale e periferico, sistema immunitario, sangue, cuore, fegato, ghiandola lacrimale, cornea, umore acqueo, iride, retina, nervo ottico.
- Esercita attività biologica sul sistema nervoso centrale e periferico, sistema immunitario, e nel sistema endocrino
- Potenziale trattamento per un grande numero di patologie degenerative del sistema nervoso, malattie autoimmuni, cutanee ed oculari
- Azione attraverso recettori ad alta affinità (TrkA) e a bassa affinità (p75) su diverse cellule e tessuti

Studi sull'NGF condotti nell'uomo

- **Morbo di Alzheimer**

(Olson L., Exp Neurol, 1993; Johagen ME., Dement Geriatr Cogn Disord, 1998)

- **Morbo di Parkinson**

(Olson L., Arch Neurol, 1991)

- **Neuropatia diabetica**

(Apfel SC., Neurology, 1998)

- **Ulcere cutanee da decubito**

(Bernabei R., Lancet, 1999)

- **Ulcere cutanee in corso di vasculiti**

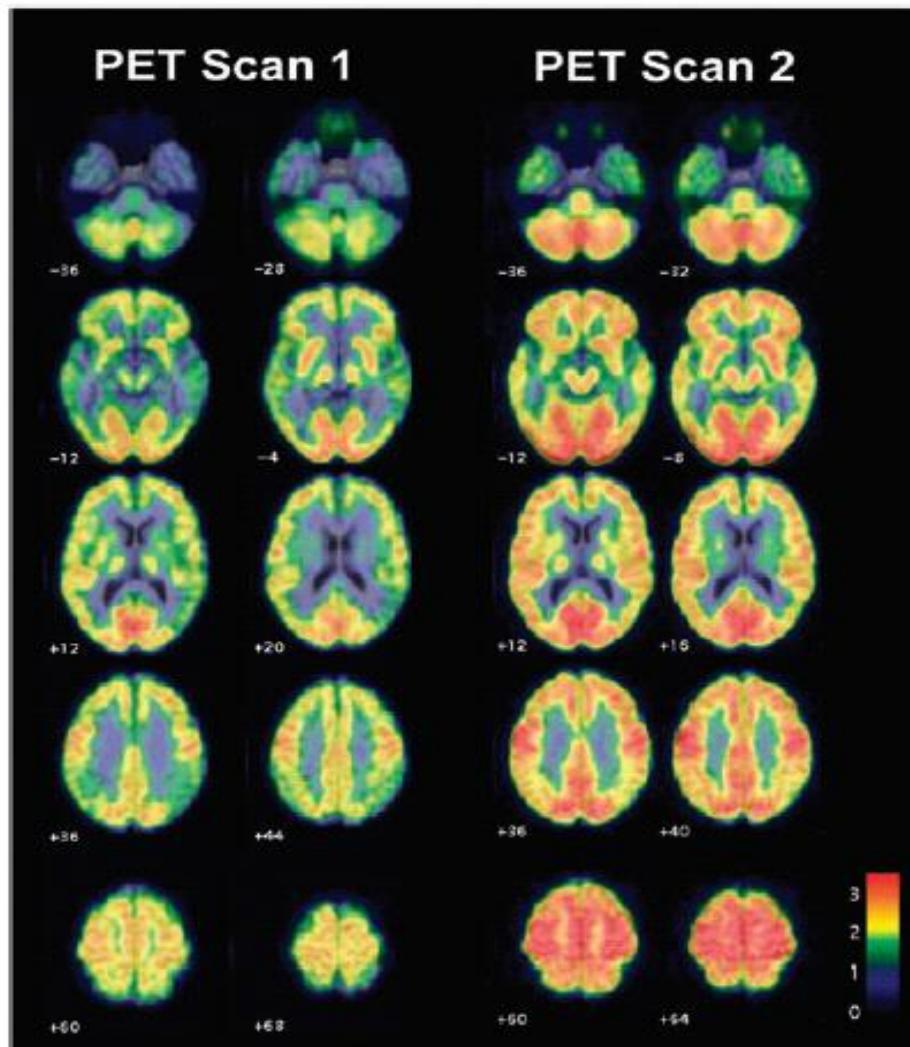
(Tuveri M., Lancet, 2000)

- **Ulcere corneali neurotrofiche**

(Lambiase A., NEJM, 1998; Bonini S., Ophthalmology, 2000)

A phase 1 clinical trial of nerve growth factor gene therapy for Alzheimer disease

Mark H Tuszyński^{1,2}, Leon Thal^{1,2}, Mary Pay¹, David P Salmon¹, Hoi Sang U³, Roy Bakay⁴, Piyush Patel⁵, Armin Blesch¹, H Lee Vahlsing^{1,2}, Gilbert Ho¹, Gang Tong¹, Steven G Potkin⁶, James Fallon⁷, Lawrence Hansen¹, Elliott J Mufson⁸, Jeffrey H Kordower⁸, Christine Gall⁷ & James Conner¹



*La somministrazione
intracerebrale di NGF
induce l'attivazione di
diverse aree cerebrali*

Effect of topical application of nerve-growth factor on pressure ulcers

Roberto Bernabei, Francesco Landi, Stefano Bonini,
Graziano Onder, Alessandro Lambiase, Roberto Pola, Luigi Aloe

THE LANCET

Volume 354 • Number 3647 • Pages 1319–1326 • October 15–21, 1999

www.thelancet.com

THE LANCET • Vol 354 • July 24, 1999

Ann Intern Med. 2003;139:635-641.



Baseline



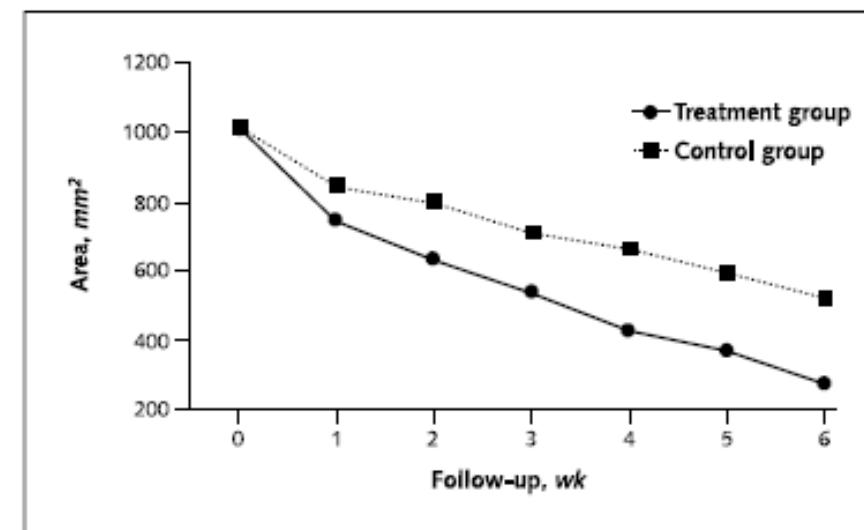
Week 2



Week 4



Week 6



La somministrazione topica di NGF sulle ulcere cutanee da decubito induce la guarigione delle lesioni

NGF e sistema visivo

- 1991 → NGF induce la differenziazione dei neuroni retinici
(Carmignoto G, Exp Neurobiol 1991; Fraude JM, Nature 1996)
- 1992 → NGF protegge il nucleo genicolato dalle modificazioni indotte da deprivazione sensitiva
(Maffei L, J Neurosci, 1992)
- 1993 → NGF protegge le cellule ganglionari retiniche dai danni ischemici, traumatici, e ipertensivi
(Siliprandi R, IOVS 1993; Lambiase A, Graefe's Arch Ophthalmol, 1997)
- 1996 → NGF rallenta la progressione delle degenerazioni retiniche ereditarie (Lambiase A, Graefe's Arch Ophthalmol, 1996)
- 1998 → NGF agisce sull'intera superficie oculare ed è stato utilizzato con successo NGF esogeno in collirio per trattare pazienti affetti da cheratite neurotrofica
(Lambiase A, NEJM, 1998)

Reprinted From



The New England Journal of Medicine

Established in 1812 as THE NEW ENGLAND JOURNAL OF MEDICINE AND SURGERY

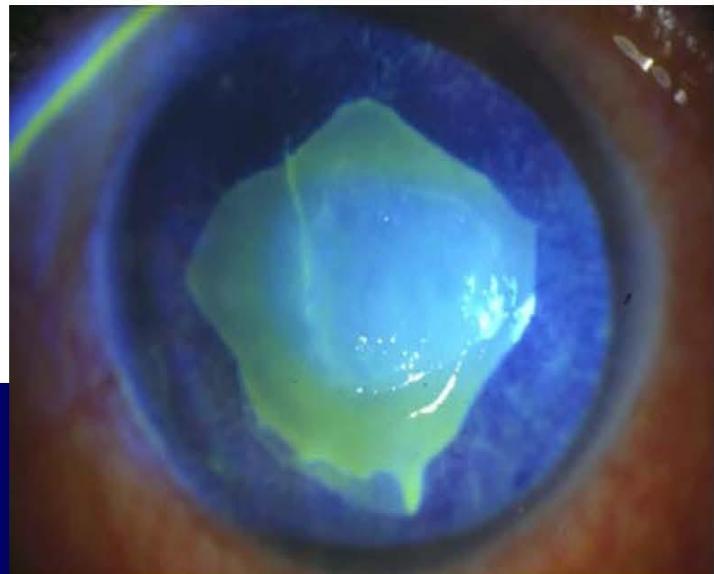
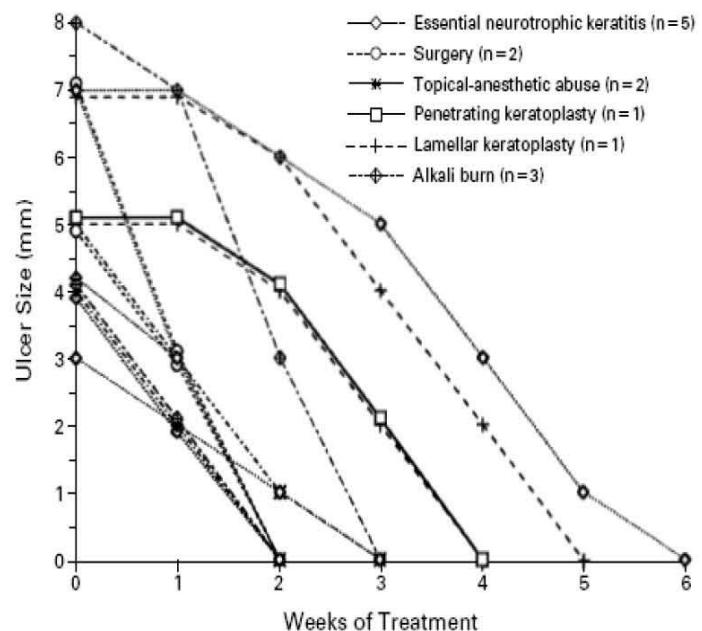
VOLUME 338

APRIL 23, 1998

NUMBER 17

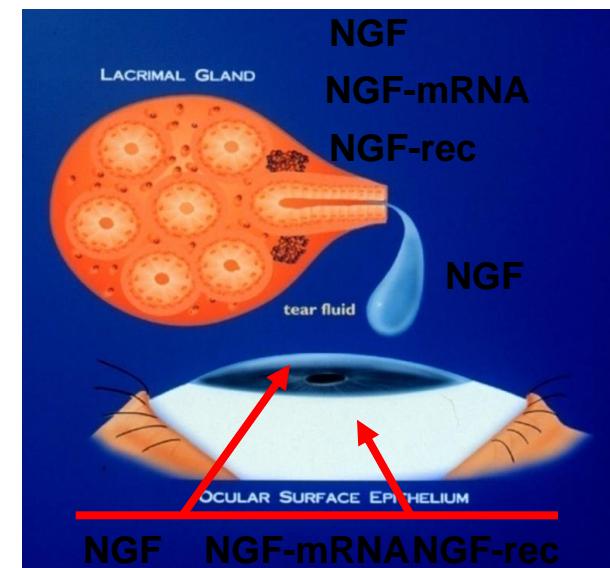
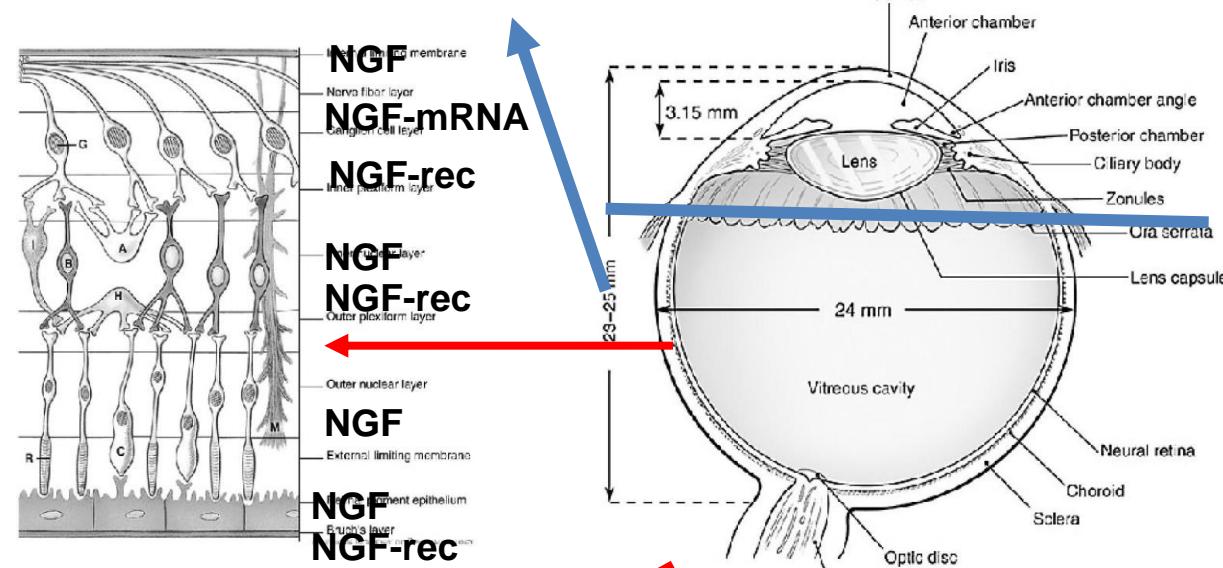
TOPICAL TREATMENT WITH NERVE GROWTH FACTOR FOR CORNEAL NEUROTROPHIC ULCERS

ALESSANDRO LAMBIASE, M.D., PAOLO RAMA, M.D., STEFANO BONINI, M.D., GIANCARLO CAPRIOLIO, M.D., AND LUIGI ALOE, PH.D.

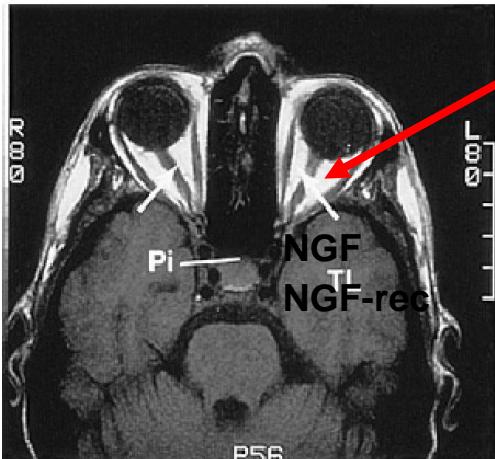


Espressione di NGF a livello oculare

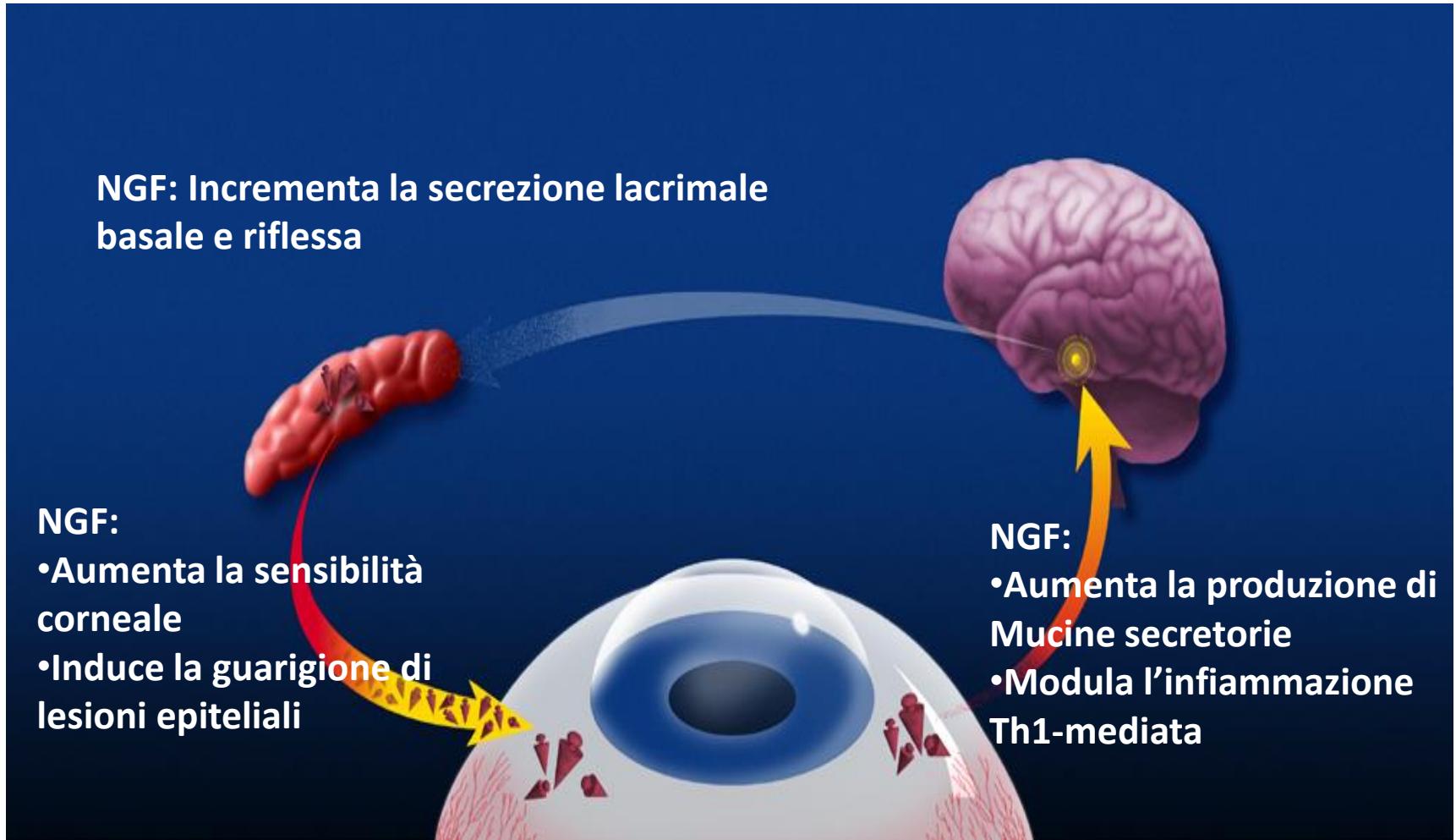
Segmento posteriore



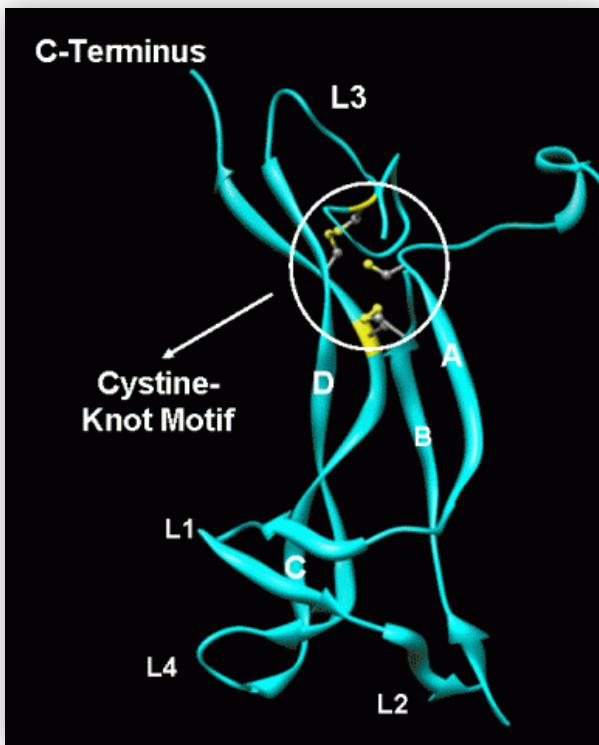
Potenziale uso terapeutico dell'NGF in diverse patologie oculari



NGF nella fisiopatologia della superficie oculare

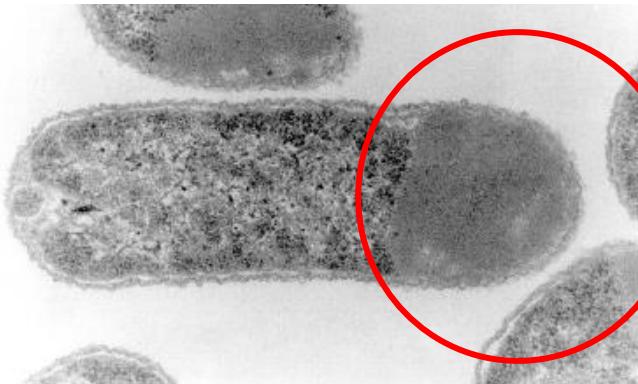


Dall'NGF murino all'NGF ricombinante umano: una storia tutta italiana



- L'NGF murino è stato ottenuto tramite l'estrazione da ghiandole sottomandibolari di topo (concentrazione nei tessuti: 0,3 ng/g)
- β -NGF è una proteina relativamente piccola di soli 118 amino acidi ma include tre ponti disolfuro
- Questa caratteristica rende difficile e complessa la produzione industriale
- L'espressione di NGF maturo nelle cellule eucarioti è possibile ma non efficiente

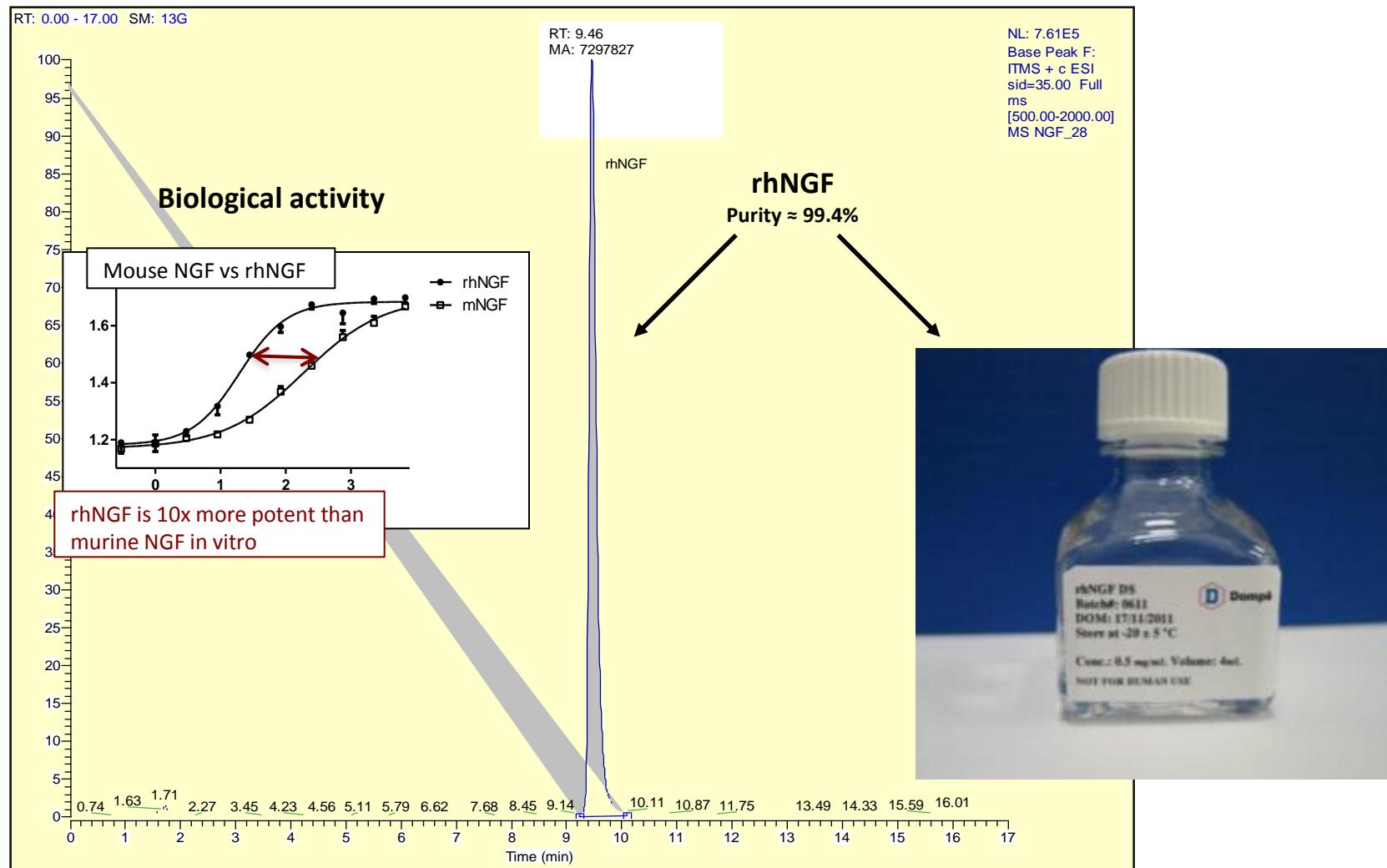
rhNGF – Produzione



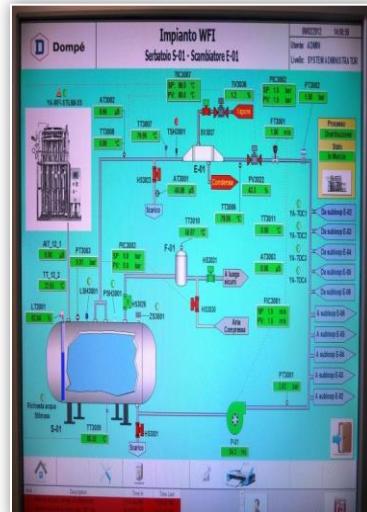
- La produzione di rhNGF nei procarioti è possibile ma si verifica la formazione di corpi di inclusione → il ripiegamento in vitro è inefficiente

Una nuova procedura di produzione è stata sviluppata da Scil Proteins Ag e ottimizzata per **uso industriale** da Dompé Farmaceutici

Cenegermin (rhNGF): processo produttivo



Sito biotech dedicato alla produzione di cenegermin





Dompé farmaceutici



rhNGF per uso clinico prodotto in GMP a L'Aquila

Dompé nel segno del biotech vuole un nuovo polo a L'Aquila

05 dicembre 2011 — pagina 24 sezione: AFFARI FINANZA

La scoperta di Rita Levi Montalcini va in fabbrica. Con la speranza di poter curare gli occhi dei malati di cheratite neurotrofica, e in un futuro prossimo, anche glaucoma e occhio secco. Questa è la scommessa che si sta giocando all' Aquila, nel nuovo stabilimento Dompé, il centro di ricerche precliniche biotech che sarà ultimato a giugno 2012. Perché, per la prima volta, a cinquant' anni dall' individuazione del Ngf (nerve growth factor), che è valso il Nobel alla scienziata italiana, un' azienda è riuscita a valorizzare la scoperta e ad avvicinarsi alla fase di commercializzazione. «Sino ad ora nessuno è riuscito a bioindustrializzare il lavoro della Montalcini. Il Ngf studiato su 150 pazienti affetti da cheratite neurotrofica ha dato risultati positivi. L' obiettivo finale, da centrare nel periodo compreso tra 2014 e 2016, è quello di completare lo sviluppo e di conseguire l' autorizzazione all' immissione in commercio del farmaco in Europa e negli Usa», dice l' ad di Dompé, Eugenio Aringheri. I tutto a partire dai 21 studi clinici, tra i quali c' è Ngf, in pancia a Dompé, su cui lavorano i 100 ricercatori dello stabilimento aquilano e più di 30 centri di ricerca collegati in Europa. La svolta biotech di Dompé non è di ieri, ma arriva da lontano e si rafforza nel 2006 quando Sergio Dompé affida la guida operativa a Eugenio Aringheri. Lo scenario della farmaceutica è in profonda evoluzione. Entro il 2015 dovrebbe scadere il 50% dei brevetti dei farmaci in circolazione. La prepotente ascesa dei generici erode i ricavi di Big Pharma e i costi della ricerca sono sempre più alti. Sempre più difficile quindi essere competitivi nei modelli di business tradizionali su cui Dompé, da quattro generazioni, ha costruito la sua storia. Bisogna cambiare pelle. L' azienda milanese, che nel 2010 ha registrato complessivamente più di 500 milioni di fatturato e impiegato 800 dipendenti, decide di rischiare puntando sulle biotecnologie, anticipando i trend di mercato. «È il secondo tempo della partita della farmaceutica», Aringheri descrive con una metafora sportiva il nuovo corso, «Ci stiamo trasformando in un player globale. Ci sono delle domande di salute ancora insoddisfatte: le malattie rare, patologie ancora orfane di cura. Questa è la nostra nuova partita, da giocare con le biotecnologie». Basti pensare che oggi 350 milioni di pazienti al mondo si curano con farmaci biotech e il 60% dei prodotti in sviluppo sono biotecnologici. A fine 2010 sono state individuate, in Italia, terzo paese in Europa, per numero di aziende, dietro a Germania e Gran Bretagna, 375 imprese biotecnologiche, per un giro di affari di 7,5 miliardi di euro. La sfida in casa Dompé è raccolta. Per mettere insieme la squadra l' azienda lombarda ha messo sul piatto una campagna acquisti (e investimenti) da circa 100 milioni di euro. Nel gennaio 2011 è stato acquisito il 49% di Anabasis e i diritti brevettuali relativi all' uso di Ngf della Montalcini nel trattamento della cheratite neurotrofica. A settembre la società milanese si è rafforzata in Philogen, salendo oltre il 40% della società italosvizzera, che è specializzata nei biofarmaci per il trattamento dei tumori. E ha dato il via alla costruzione del polo biotech dell' Aquila, accanto allo storico stabilimento del gruppo. «Quest' anno è stato fondamentale per l' azienda, per la finalizzazione di acquisizioni di patenti e quote di aziende, poi c' è stata la cessione della joint venture con Biogen proprio per ridefinire il nostro campo di azione. Dal 2012 entra nel vivo la fase operativa che ci porterà sul mercato, con almeno due farmaci biotech, entro il 2016», Composta la filiera, che va dal brevetto alla produzione, la società punta a valorizzare anche quei settori non biotech dove ci sono ancora margini di sviluppo. Come ad esempio nelle malattie rare, diabete giovanile e farmaci attivi nella ricerca oncologica. - CHRISTIAN BENNA

rhNGF – il primo trial clinico in oftalmologia

Uno studio di fase I, randomizzato, in doppio cieco, controllato con placebo, a dose multiple crescenti

Obiettivi

- Valutare la sicurezza e tollerabilità di una singola somministrazione e di dosi multiple crescenti di rhNGF in soggetti sani.
- Valutare la farmacocinetica sistemica di rhNGF somministrato per via topica in soggetti sani
- Valutare l'immunogenicità di rhNGF somministrato per via topica in soggetti sani

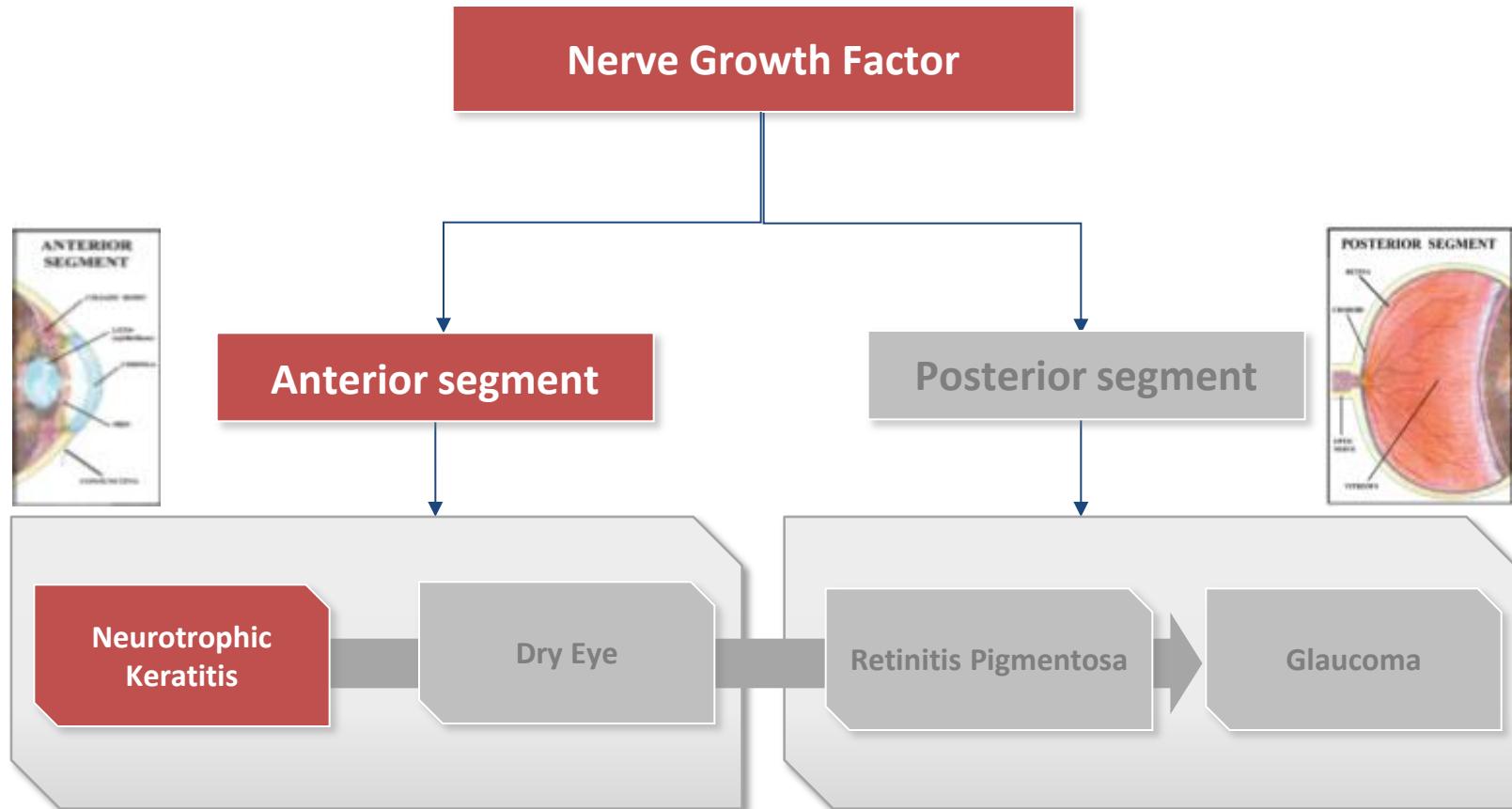
rhNGF in collirio – Sicurezza e tollerabilità eccellenti

Risultati dello studio di fase I nei volontari sani

- Nessun evento avverso serio è stato riportato
- Nessuna evidenza di assorbimento sistematico o di immunogenicità
- Tutti gli eventi avversi oculari riportati sono stati lievi in intensità e transitori
- Nessuna differenza statisticamente significativa rispetto al placebo

[Ferrari M, Mantelli F et al, BioDrugs 2014]

Il percorso di sviluppo di rhNGF collirio a partire da una patologia rara



Cheratite Neurotrofica (NK)

- È una patologia corneale **cronica** causata da un danno all'innervazione trigeminale e caratterizzata da ridotta sensibilità corneale (ipo/anestesia), con conseguente riduzione della lacrimazione riflessa, dell'ammiccamento e della riparazione epiteliale.
- Poiché la cornea è avascolare, i nervi servono anche a portare nutrimento, quindi un danno all'innervazione può portare a morte del tessuto corneale.
- Prevalenza: <5/10,000 (range 1.6-4.2)



Major Causes of Neurotrophic Keratitis

SYSTEMIC

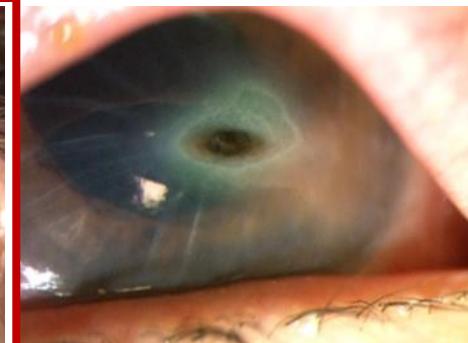
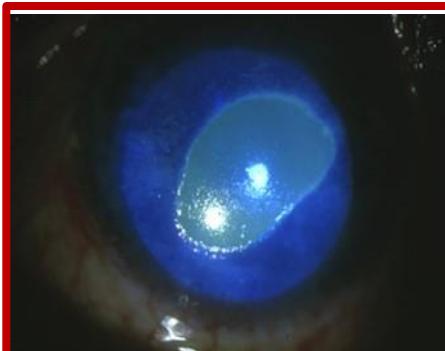
neoplasm
neurosurgery
diabetes
multiple sclerosis
genetic diseases
vitamin A deficit

OCULAR

herpes simplex
herpes zoster
chemical and physical burns
topical anesthetic abuse
chronic inflammation
ocular surgery
refractive surgery
contact lens wear

Presentazione clinica: progressione da lieve danno epiteliale a perforazione in assenza di dolore

Stadiazione basata sulla severità: la classificazione di Mackie



STADIO 1

Difetto epiteliale
lieve, transiente

STADIO 2 (moderata)

Difetto epiteliale
persistente (PED)

STADIO 3 (severa)

Ulcera corneale

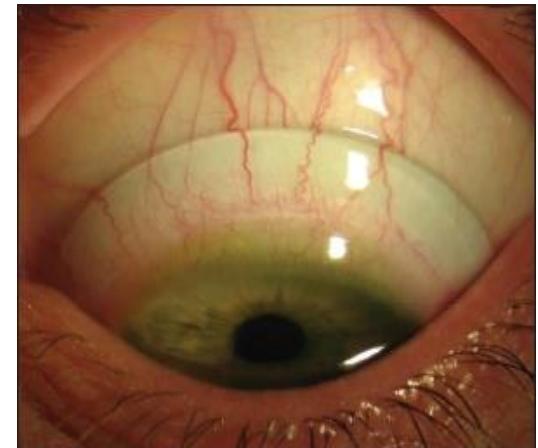
Necrosi stromale /
perforazione

Assenza di sensibilità corneale = mancata percezione del peggioramento → perforazione/perdita occhio
QoL compromessa: visite molto frequenti e stress quotidiano → il paziente non si rende conto se sta peggiorando

Assenza di trattamenti approvati per NK prima di cenegermin

Opzioni disponibili per rallentare la progressione (non trattamenti risolutivi):

- Lubrificazione (sostituti lacrimali)
- Nutrizione (siero autologo, albumina)
- Protezione meccanica (lenti a contatto, botox ptosis)
- Ricostituente matrice extracellulare (Cacicol®)



Trattamento chirurgico in caso di progressione (per salvare l'occhio)

- Tarsorrafia
- Trapianto membrana amniotica
- Flap congiuntivale



Cenegermin (rhNGF) collirio è il primo trattamento approvato per NK

- È il **primo ed unico farmaco approvato** per i pazienti con NK di stadio II e III. È un prodotto «**made in Italy**», dalla **scoperta alla commercializzazione!**
- Con un duplice MoA (guarigione della lesione epiteliale e reinnervazione corneale) **cambia la storia naturale della malattia** in sole **8 settimane**.
- **Agisce sulla riparazione** dell'epitelio corneale sia direttamente, sia indirettamente (reinnervazione, lacrimazione).
- Ha ricevuto l'**ODD** dal COMP, è stato valutato con **procedura accelerata** da CHMP e FDA, ha ricevuto il **promising innovative medicine status (PIMS)** in UK e la **breakthrough designation (FDA)** in USA.



Approvazione EMA sulla base di robuste evidenze cliniche

- **2 trial clinici randomizzati indipendenti, double-masked, multicentrici vs veicolo →** Outcome significativo sull'endpoint primario (guarigione della lesione) con p<0.01 in entrambi gli studi
- **204 pazienti arruolati** (39 centri EU, 11 centri US) → Gli studi più grandi mai condotti in questa indicazione rara

Efficacia

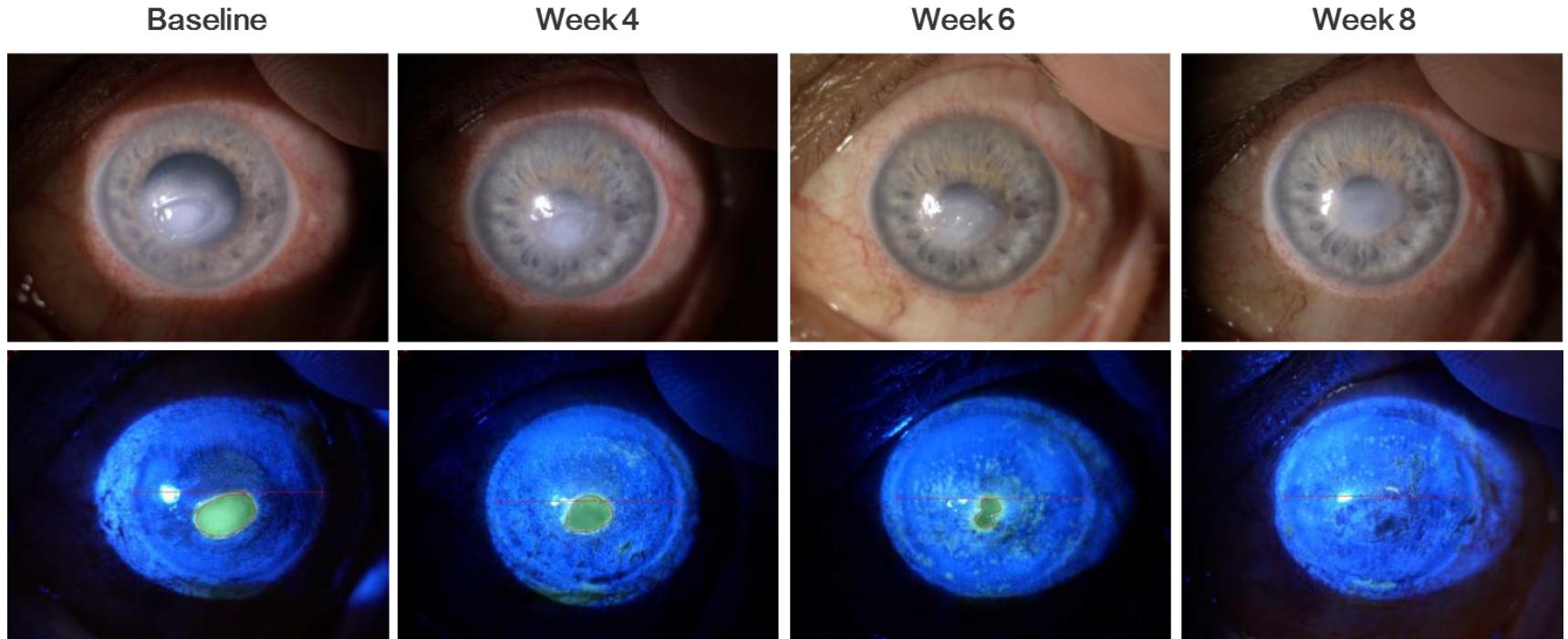
RCT risultati principali

	Patients completely healed at week 8	
Treatment	Study NGF0212	Study NGF0214
rhNGF 20µg/ml	74% (N=50)	69% (N=23)
Vehicle	43% (N=51)	29% (N=24)
Difference	31%	40%
P-value	0.002	0.006

- Valutazione indipendente da parte di un central reading center

- Endpoint primario appropriato per NK così come deciso con autorità regolatorie e OLs
- Miglioramento clinicamente rilevante di sensibilità corneale e lacrimazione riflessa, coerente con azione di Oxervarte su tutte le componenti della malattia
- Maggiore rischio di progressione di malattia in pazienti trattati con veicolo

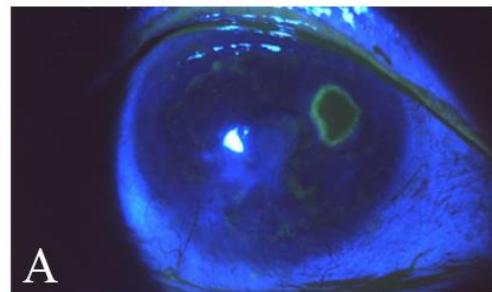
NK stadio 3 (post HSV)



Caucasian male, 54 year old

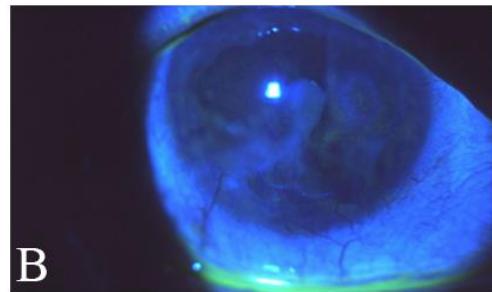
NK stadio 2 (post HSV)

Baseline



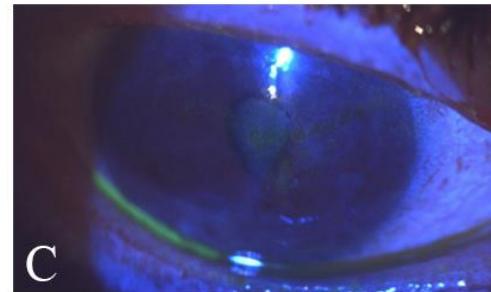
A

Week 4



B

Week 8



C



D



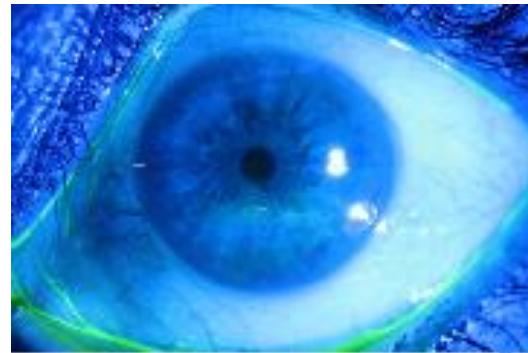
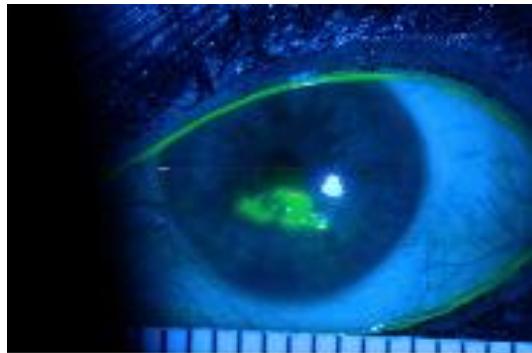
E



F

Caucasian female, 43 year old

Stage 2 NK (diabete mellito)



Baseline



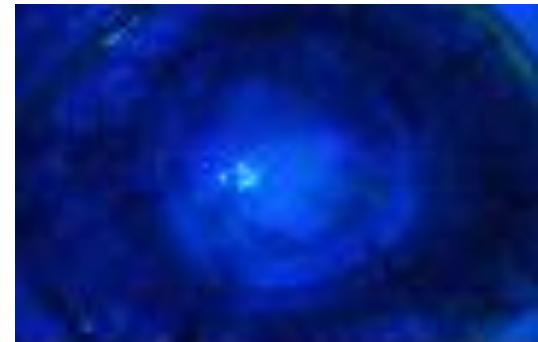
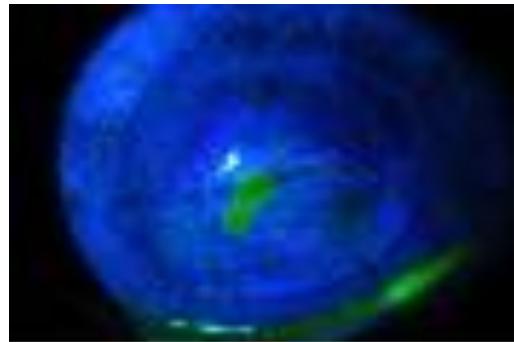
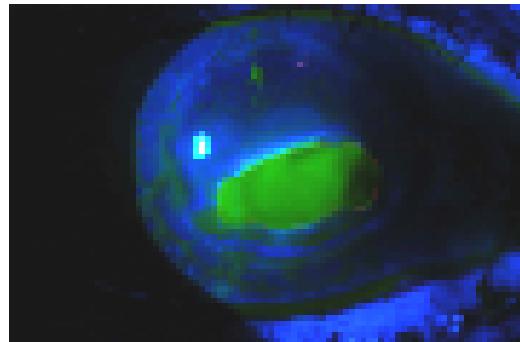
Week 4



Week 8

Caucasian female, 54 year old

NK stadio 3 (post HSV)



Baseline



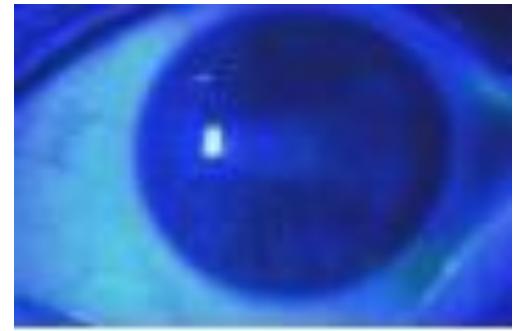
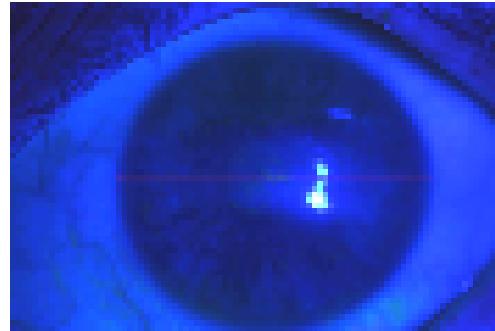
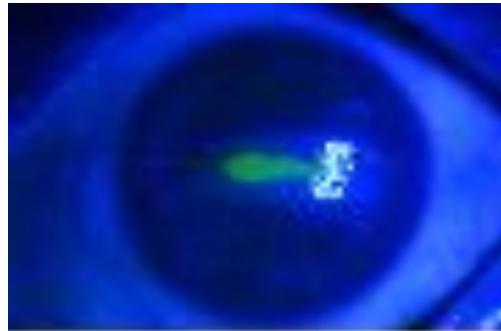
Week 4



Week 8

Asian male, 58 year old

NK studio 2 (post HZV e diabete mellito)



Baseline



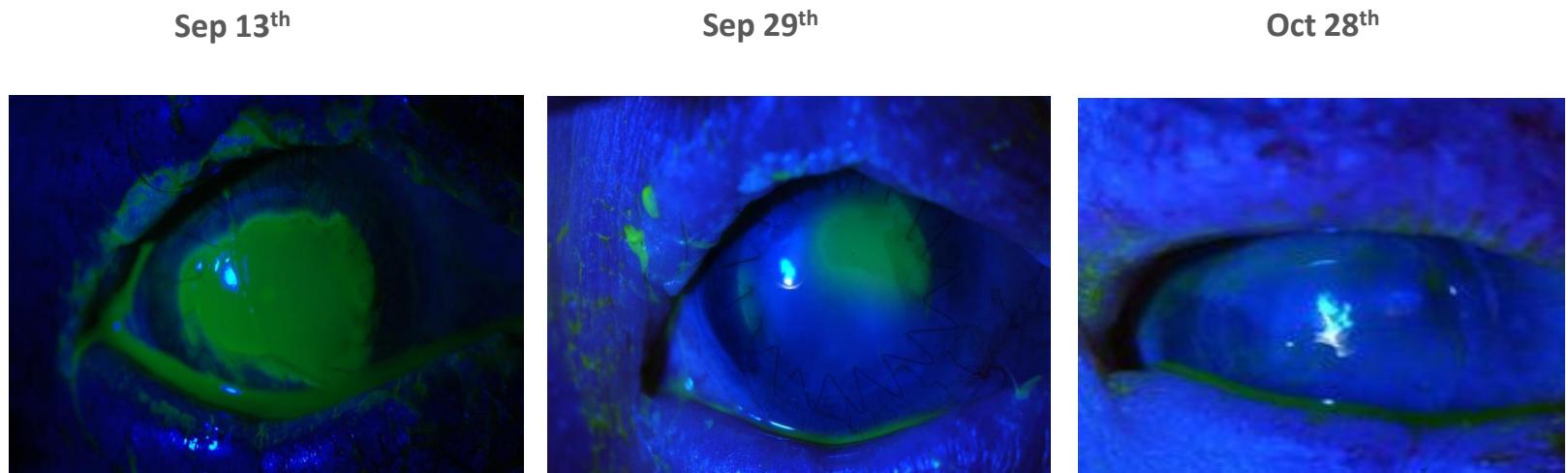
Week 4



Week 8

Caucasian female, 33 year old

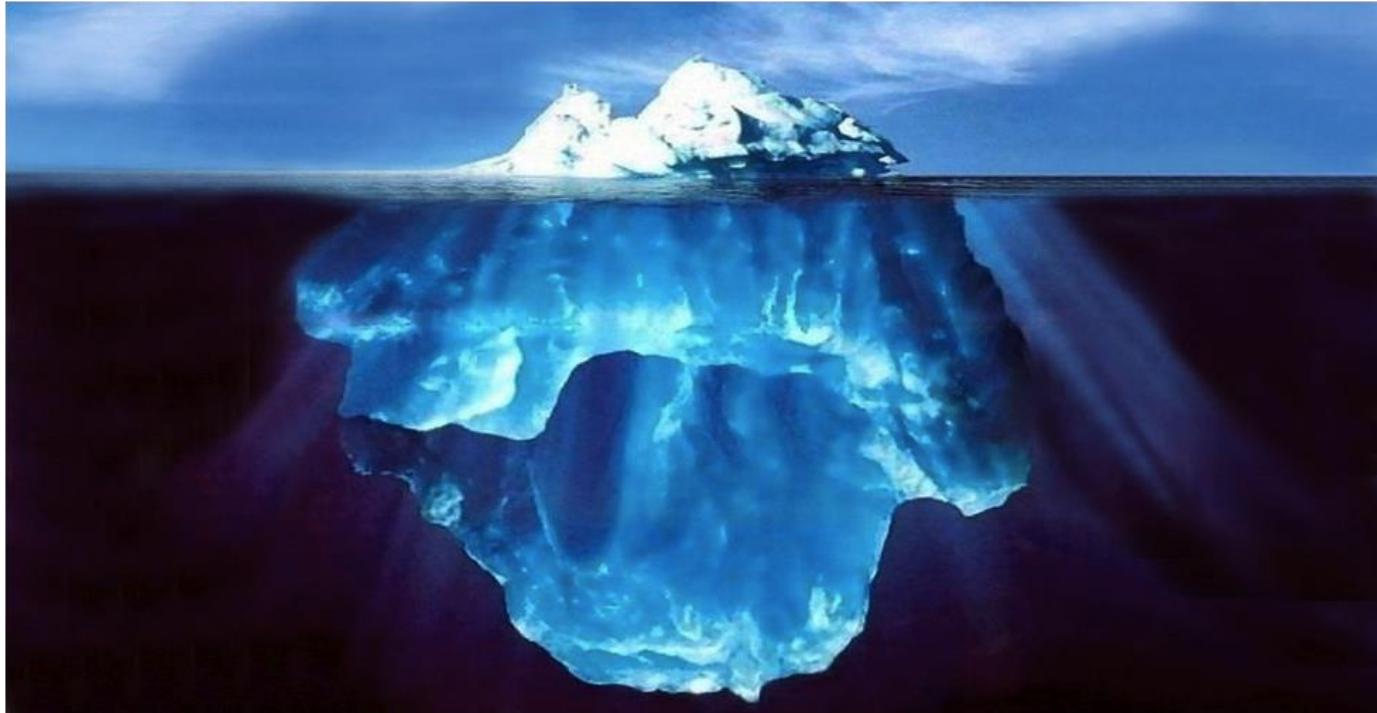
Necrosi su trapianto, uso compassionevole: paziente monocolo (altro occhio perso per complicazioni di NK)



Primo paziente trattato con cenegegermin: dal 2013 non ci sono state recidive di NK

Conclusioni

- NGF è un fattore pleiotropico con molteplici azioni su diverse strutture oculari (lacrime, epitelio, cheratociti, endotelio, neuroni, cellule ganglionari, ecc.)
- NGF rappresenta una potenziale terapia topica per numerose patologie oculari ad alta prevalenza tra cui occhio secco e glaucoma, ma grazie al percorso di sviluppo in una rara patologia orfana di cura è riuscito finalmente a divenire un farmaco approvato dopo decenni dalla sua scoperta
- L'approvazione di rhNGF (cenegermin) per la cheratite neurotrofica rappresenta un *breakthrough* in oftalmologia:
 - Prima cura per una patologia cronica, progressiva e degenerativa
 - Primo farmaco biologico topico in oftalmologia



«L'intera storia dell'NGF è paragonabile alla scoperta di un continente sommerso rivelato dalla sua sommità emergente»

Rita Levi-Montalcini