

UNIVERSITÀ DI PISA

Dipartimento di patologia chirurgica, medica, molecolare e dell'area critica

Corso di laurea in psicologia clinica e della salute

Tesi di laurea magistrale

"ACIDO VALPROICO: FARMACO PLEIOTROPICO, CON NUOVE POTENZIALI PROPRIETA' ANTITUMORALI"

CANDIDATO

Erika Cini

RELATORI

Prof. Marco Scarselli

Dott.ssa Letizia Biso

Anno accademico: 2024/2025

INDICE

Abstract **1**

1 Dalla scoperta delle proprietà antiepilettiche dell'acido valproico, alle sue caratteristiche farmacocinetiche **3**

1.1 Studio delle proprietà anticonvulsivanti dell'acido valproico: dalla rilevazione ad oggi 3

1.2 Caratteristiche farmacocineiche del VPA 4

1.2.1 Fattori farmacocinetici alla base della variabilità interindividuale dei livelli plasmatici del VPA 4

1.3 Monitoraggio terapeutico dei farmaci (TDM) 6

2 Acido valproico: un farmaco dal complesso meccanismo di azione ***7***

2.1 Spinta inibitoria del VPA: controllo diretto delle vie sinaptiche eccitatorie e inibitorie 7

2.1.1 Potenziamento dell'attività GABAergica 7

2.1.2 Riduzione dell'attività neuronale ad alta frequenza 8

2.1.3 Regolazione della trasmissione di neurotrasmettitori eccitatori 9

2.2 Meccanismi epigenetici del VPA: orientamento dei neuroni verso uno stato neuroprotettivo 9

2.2.1 Il VPA e l'enzima istone deacetilasi (HDAC) 10

2.2.2 VPA e litio: somiglianze e differenze nella modulazione dell'espressione genica per un potenziamento dei loro effetti terapeutici 13

3 Ampio spettro delle applicazioni cliniche dell'acido valproico **15**

3.1 Usiclinici del VPA: dagli utilizzi convenzionali al riposizionamento del farmaco 15

3.2 VPAcome antiepilettico 15

3.2.1 Epilessia: definizione e trattamento di prima linea 15

3.2.2 VPA come antiepilettogeno 17

3.3 VPA nella profilassi dell'emicrania e nel trattamento deldolore neuropatico 17

3.4 VPA come stabilizzante dell'umore 17

3.4.1 Disturbi bipolari: un'ampia eterogeneità clinica riflessa in trattamenti personalizzati 17

3.4.2 Nuove opzioni di trattamento verso una gestione più efficace dei sintomi 23

3.4.3 Dalla modulazione del glutammato al targeting della trasduzione del segnale 23

3.5 Nuovi indirizzi di ricerca sull'utilizzo clinico delVPA 25

3.5.1 VPA come antimicrobico 25

3.5.2 VPA nel trattamento del sistema cardiovascolare 25

3.5.3 VPA nella gestione delle malattie neurologiche e neurodegenerative 25

3.6 Effetti avversi del VPA 30

3.6.1 Aumento di peso 31

3.6.2 Epatotossicità 32

3.6.3 Tossicità per la riproduzione 32

3.6.4 Nefrotossicità 32

3.6.5 Teratogenicità 33

4 Meccanismo antitumorale dell'acido valproico: un nuovo ruolo per un vecchio farmaco? 37

4.1 Cosa è il cancro 37

4.1.1 Agonisti del cancro 38

4.1.2 Fattori di rischio del tumore 38

4.2 Trattamento del tumore 39

4.2.1 Tipi di terapia antitumorale 40

4.2.2 Limiti delle terapie esistenti 41

4.2.3 Riposizionamento dei farmaci: una possibile soluzione 42

4.3 Gliomi 43

4.4 Glioblastoma multiforme 45

4.4.1 Fattori di rischio immutabili 45

4.4.2 Fattori di rischio di tipo epidemiologico 47

4.4.3 Strumenti di diagnosi 47

4.4.4 Presentazione clinica 48

4.4.5 Trattamenti convenzionali 49

4.4.6 Terapie di supporto 50

4.4.7 Recidive 52

4.4.8 Follow-up per la valutazione della risposta al trattamento 53

4.4.9 Prognosi infausta 53

4.4.10 Terapie sperimentali 55

4.4.11 Cross-talk tra vie oncogeniche ed epilettogene: una possibile soluzione all'irreversibilità della neoplasia 56

4.5 VPA: un farmaco antiepilettico dalle potenziali proprietà antineoplastiche nel trattamento del glioblastoma 57

4.6 VPA come agente adiuvante nel trattamento delglioma 59

4.6.1 VPA in combinazione con la chemioterapia 60

4.6.2 VPA in combinazione con la radioterapia 62

4.6.3 VPA in combinazione con l'immunoterapia 62

4.7 Psicoterapia nei tumori cerebrali 62

4.7.1 Riabilitazione cognitiva nelle neoplasie cerebrali 63

4.7.2 Psicoterapia cognitiva: pioniera delle modalità di intervento psico- oncologico 64

5 Valutazione dell'effetto antitumorale dell'acido valproico 67

5.1 Obiettivo dello studio 67

5.2 Materiali e metodi 67

5.2.1 Reagenti 67

5.2.2 Coltura cellulare 67

5.2.3 Vitalità cellulare 67

5.2.4 Analisi statistica 68

5.3 Risultati e discussione 68

5.3.1 Effetto sulla vitalità cellulare del VPA da solo e in combinazione con la TMZ 68

5.3.2 Effetto sinergico di VPA e TMZ 70

5.3.3 Limiti dello studio 72

CONCLUSIONI 73

BIBLIOGRAFIA 75

SITOGRAFIA 86

Abstract

Il lavoro di tesi analizza la qualità pleiotropica dell'acido valproico, i cui profili di efficacia e tollerabilità sono stati ben riportati in contesti preclinici e clinici. È stato introdotto nella pratica terapeutica circa sessanta anni fa ed oggi viene utilizzato nel trattamento di molte malattie, sia epilettiche che non epilettiche.

Le caratteristiche antiepilettiche dell'acido valproico sono legate alla sua capacità di agire sul sistema GABAergico e sui canali ionici (del sodio, del calcio, del potassio), responsabile della sua attività inibitoria a livello cerebrale. Inoltre, può agire sui sistemi dopaminergici, serotoninergici e sui fattori trascrizionali, attraverso cui promuove l'attivazione antiapoptotica, neurotrofica e neuroprotettiva.

Grazie ai suoi numerosi meccanismi di azione, l'acido valproico è stato successivamente introdotto nella profilassi dell'emicrania e nel disturbo bipolare, sia nelle forme atipiche e complicate, sia in quadri clinici di comorbilità con altri disturbi, come i disturbi d'ansia e il disturbo da uso di alcol.

Negli ultimi anni, gli effetti neuroprotettivi del farmaco hanno portato anche ad una sua sperimentazione in patologie neurologiche degenerative (malattia di Alzheimer, sclerosi laterale amiotrofica, morbo di Parkinson) infettive ed oncologiche, in particolare, nelle neoplasie del sistema nervoso centrale, come il glioblastoma multiforme. Questo tumore è caratterizzato da una prognosi infausta, anche per il ritardo nella diagnosi e perché associato ad un alto tasso di recidive, per la variabilità fenotipica della malattia stessa e per gli effetti avversi correlati ai trattamenti convenzionali somministrati. Alcune forme di glioblastoma, con l'avanzare della malattia, presentano crisi epilettiche. In questi casi, è adeguato affiancare alle terapie antitumorali un trattamento anticonvulsivante. Diversi studi in letteratura hanno rilevato come tali forme di glioblastoma, una volta trattate con antiepilettici, siano correlate ad una maggiore sopravvivenza. In particolare, l'acido valproico è diventato paradigmatico per il potenziale riposizionamento di questo farmaco nel trattamento della neoplasia cerebrale, per la sua azione antiproliferativa. Infatti, promuove l'inibizione di vie di segnalazione legate all'angiogenesi e alla proliferazione cellulare, con conseguente riduzione del funzionamento dei geni oncogeni e contribuisce all'attivazione delle vie di segnalazione coinvolte nell'apoptosi cellulare, con conseguente induzione dei geni oncosoppressori.

Con queste premesse, il nostro studio preliminare e sperimentale ha voluto indagare in vitro su linee cellulari di glioblastoma le proprietà antiproliferative dell'acido valproico. Questo composto ha confermato la sua azione antiproliferativa, sia in monoterapia, sia in associazione con la temozolomide, il principale chemioterapico del trattamento in prima linea del glioblastoma. La loro

combinazione ha rilevato, inoltre, un effetto sinergico in grado di potenziare gli effetti delle due sostanze somministrate singolarmente.

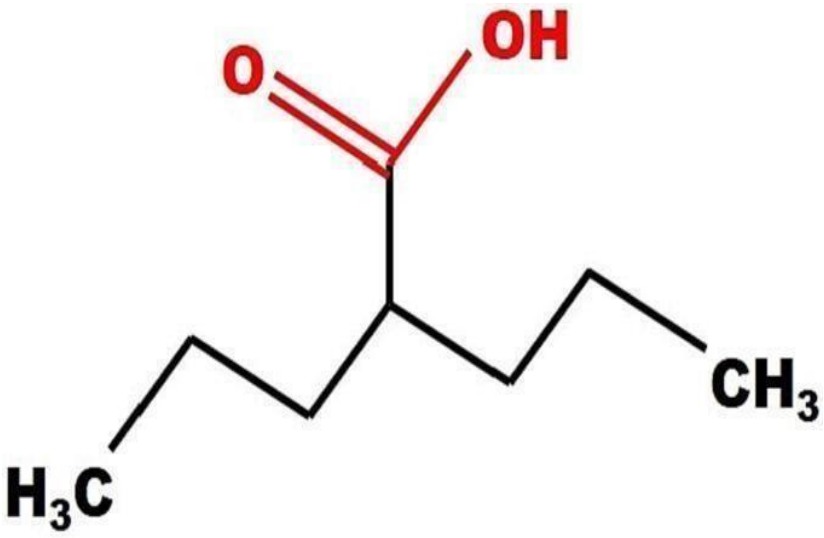
Gli esiti ottenuti sono preliminari, quindi necessitano di ulteriori conferme. Ciononostante, sono promettenti e sembrano confermare il potenziale utilizzo dell'acido valproico in ambito oncologico, permettendo di approcciarsi con fiducia ad una possibilità di utilizzo del farmaco anche per patologie tumorali estremamente gravi.

CAPITOLO PRIMO

Dalla scoperta delle proprietà antiepilettiche dell'acido valproico, alle sue caratteristiche farmacocinetiche

1.1 Studio delle proprietà anticonvulsivanti dell'acido valproico: dalla rilevazione ad oggi

L'acido valproico (valproato di sodio, VPA), i cui profili di efficacia e tollerabilità sono stati ben riportati in contesti preclinici e clinici, è stato introdotto nella pratica terapeutica circa sessanta anni fa. Oggi è un farmaco di prima scelta nel trattamento di molte malattie, sia epilettiche che non epilettiche, grazie al buon compromesso fra i molteplici usi clinici, garantiti dal suo ampio spettro di meccanismi di azione, e la buona tollerabilità degli effetti avversi. È un derivato dell'acido valerico, un acido carbossilico a basso peso molecolare, presente in natura. La struttura molecolare del VPA è quella di un acido grasso ramificato a catena corta, come mostra la figura 1, riportata da "*A comprehensive review on pharmacological applications and drug-induced toxicity of valproic acid*, di Safdar et al., 2023".



(Fig. 1: struttura dell'acido valproico)

Nel 1882, Beverley Burton, un chimico americano, per la prima volta sintetizza il VPA, che inizialmente veniva considerato un solvente organico. Dopo più di 70 anni, nel 1962, il farmaco viene testato come solvente nelle molecole controllate per valutare la sua potenziale attività anticonvulsivante e ne vengono scoperte le proprietà antiepilettiche. Così, due anni dopo, viene condotto il primo studio clinico del farmaco nell'epilessia. Nel 1967, in Francia, il VPA viene introdotto nel mercato europeo con il marchio "Depakine", nel 1973 nel Regno Unito e nel decennio successivo anche in altri paesi. Nel 1978, dopo l'approvazione della Food and Drug Administration (FDA), diventa disponibile anche negli Stati Uniti.

1.2 Caratteristiche farmacocinetiche del VPA

La biodisponibilità del VPA varia dall'81% all'89% per tutte le formulazioni di uso comune e si mantiene durante il trattamento cronico, in cui l'assorbimento è più rapido. Il farmaco si lega fortemente all'albumina, tendenzialmente dal 90% al 95% e quindi solo il 5 - 10% rimane disponibile per gli effetti farmacologici e per la clearance (Kodama et al., 2001; Nasreddine et al., 2018). Nell'essere umano viene metabolizzato attraverso tre vie principali: la glucuronidazione, la β-ossidazione nei mitocondri e l'ossidazione mediata dal citocromo P450 (CYP). Le prime due vie sono predominanti, poiché costituiscono rispettivamente il 50% e il 40% del VPA metabolizzato; l'ossidazione CYP dipendente invece, rappresenta una via minore perché gestisce meno del 10% del farmaco metabolizzato. Il principale metabolita del VPA è il valproato glucuronide, considerato non tossico per le cellule a differenza di altri prodotti del metabolismo epatotossici che derivano sia da vie mitocondriali che da vie non mitocondriali. L'emivita del VPA varia da 9 a 18 ore, con tempi più brevi in trattamenti combinati con farmaci induttori di enzimi (Ghodke-Puranik et al., 2013).

1.2.1 Fattori farmacocinetici alla base della variabilità interindividuale dei livelli plasmatici del VPA

Nonostante la buona tollerabilità del VPA, la pratica clinica ha evidenziato una significativa variabilità dei suoi livelli plasmatici, che può comprometterne efficacia, sicurezza e tollerabilità, favorendo l'insorgenza di effetti avversi (Jiang et al., 2009). Uno dei fattori farmacocinetici alla base dei livelli subterapeutici del VPA è l'autoinduzione, cioè la tendenza del farmaco ad aumentare i suoi livelli metabolizzabili nel corpo, attraverso l'attivazione di enzimi responsabili del suo metabolismo (Patsalos et al., 2003). Il farmaco viene metabolizzato più velocemente, i suoi livelli plasmatici diminuiscono e la sua efficacia terapeutica si riduce, richiedendo così un aumento della dose per mantenere l'effetto terapeutico desiderato (Mhaimeed et al., 2022). Il fenomeno dell'autoinduzione del VPA è stato riportato per la prima volta in una serie di casi in cui tre pazienti trattati con VPA per esigenze mediche diverse hanno richiesto dosaggi molto elevati, compresi tra 4000 e 10.500 mg/die, per raggiungere i livelli terapeutici (Jackson et al., 2015). Alla base di questo fenomeno possono

esserci uno o più fattori farmacocinetici, in particolare le interazioni farmacologiche, la saturazione proteica dose-correlata, le comorbilità mediche, i polimorfismi genetici nel metabolismo degli enzimi, l'età, il genere ed anche la dieta (Mhaimeed et al., 2022).

Le interazioni tra VPA e alcuni farmaci somministrati contemporaneamente possono influenzare uno dei quattro fattori farmacocinetici, assorbimento, distribuzione, metabolismo ed eliminazione.

Dal momento che il VPA è metabolizzato da diversi enzimi, l'aumento dei livelli del farmaco metabolizzabile può essere determinato dall'uso concomitante di farmaci induttori di UGT ed enzimi CYP, in particolare farmaci antiepilettici (AED), come la carbamazepina e la fenitoina (Mhaimeed et al., 2022). Tale aumento può essere causato anche dalle interazioni con altri farmaci legati all'albumina, etichettate come reazioni di spostamento proteico, in grado di alterare la distribuzione del VPA nei tessuti.

Un aumento dei livelli di VPA metabolizzabile può essere provocato anche da una saturazione proteica ad alte dosi del farmaco (Ding et al., 2015). È stato riportato che la somministrazione cronica di VPA ad alte dosi aumenta i livelli del farmaco metabolizzabile, con conseguente aumento del tasso di eliminazione (Anderson et al., 1998; McLaughlin et al., 2000).

Oltre alle interazioni farmacologiche, la variabilità dei livelli di VPA può essere spiegata anche da specifici polimorfismi genetici che ne influenzano il metabolismo (Guo et al., 2012). Avere più vie metaboliche aumenta il rischio di interazioni gene farmaco, specialmente quando molti enzimi metabolici sono polimorfici (Hung et al., 2011). Diversi polimorfismi UGT1A6 sono stati associati all'autoinducibilità, alcuni nei bambini (Hung et al., 2011; Kim e Kim, 2019), altri nelle popolazioni adulte (Sun et al., 2017; Tanner e Tyndale, 2017).

Dal momento che il VPA si lega principalmente all'albumina, anche qualsiasi alterazione dei livelli della proteina può comportare modifiche parallele dei livelli del farmaco (Metanospino, 2018; VandenBerg et al., 2017). Una malnutrizione ed alcune condizioni mediche, come la sindrome nefrosica, stati uremici o malattie del fegato, sono coinvolte in una diminuzione dei livelli di albumina che, a sua volta, può determinare un aumento dei livelli di VPA metabolizzabile (Ghodke-Puranik et al., 2013) con conseguente sviluppo di effetti avversi, come sonnolenza, disartria e difficoltà a camminare (Bromley et al., 2009; Meador et al., 2009). Altre condizioni mediche, come lo stress infiammatorio acuto o traumatico, sono associate ad un aumento dei livelli di albumina che, a sua volta può ridurre eccessivamente i livelli di VPA metabolizzabile con conseguente ricaduta maniacale e convulsiva.

Livelli del VPA a frazione libera (Smith et al., 2016) sono significativamente più elevati anche nei pazienti di età pari o superiore a 45 anni rispetto ai pazienti più giovani (Smith et al., 2016). Questa differenza legata all'età può essere spiegata da più fattori, come i cambiamenti nel legame del VPA con l'albumina (Kodama et al., 2001), i livelli della proteina (Perucca et al., 1984), la diminuzione della funzione degli organi, (Marvanova, 2016), il declino della capacità di metabolizzazione dei farmaci e i polimorfismi genetici legati all'età.
Per quanto riguarda il genere, livelli lievemente più elevati di VPA metabolizzabile sono stati documentati nelle donne, rispetto agli uomini (Nasreddine et al., 2018).

1.3 Monitoraggio terapeutico dei farmaci (TDM)

Data l'importante variabilità dei livelli di concentrazione plasmatica del VPA, il monitoraggio terapeutico dei farmaci (TDM) rappresenta uno strumento efficace per migliorare le terapie farmacologiche nella pratica clinica.

Il TDM è uno strumento in grado di restituire un intervallo di riferimento per la concentrazione plasmatica del farmaco, con la più alta probabilità di risposta terapeutica ottimale, associata ad un ridotto rischio di reazioni avverse e tossicità (Ghodke-Puranik et al., 2013). Un uso corretto del TDM permette di intervenire tempestivamente su pazienti che, nonostante assumano dosi convenzionali del farmaco, non rispondono alla terapia, o recidivano o sviluppano effetti avversi fino alla tossicità. Questo fornisce importanti vantaggi anche in termini di costi-benefici, soprattutto nella riduzione della durata della degenza ospedaliera e dei costi sanitari (Ghodke-Puranik et al., 2013).

Tra i numerosi farmaci usati per trattare le malattie del sistema nervoso centrale (SNC), quelli antiepilettici sono, probabilmente, la più grande categoria per la quale viene eseguito il monitoraggio terapeutico. Le ragioni possono essere diverse, in particolare la difficoltà nel prevedere l'insorgenza delle convulsioni, la necessità di confermare l'aderenza terapeutica dei pazienti ai trattamenti in caso di recidiva delle crisi, il bisogno di verificare se una mancata risposta alla terapia da parte di pazienti conformi sia riferibile ad un ridotto livello di concentrazione plasmatica del farmaco o se segni di tossicità siano correlabili invece a livelli elevati. Fra i pazienti con epilessia, a beneficiare particolarmente del TDM di questi farmaci, sono sia i neonati/bambini e le persone anziane, per le loro particolari caratteristiche farmacocinetiche in termini di metabolismo ed eliminazione dei farmaci, sia i pazienti che assumono una terapia combinata di più farmaci antiepilettici, le cui comuni interazioni farmacocinetiche possono alterare fortemente le concentrazioni plasmatiche, anche se somministrati a dosaggi standard (Ghodke – Puranik et al., 2013).

CAPITOLO SECONDO

Acido valproico: un farmaco dal complesso meccanismo di azione

Il VPA ha un meccanismo di azione articolato che si riflette in un ampio spettro di applicazioni cliniche. La definizione del farmaco come antiepilettico tradizionale è legata alla sua capacità di agire sul sistema GABAergico, sui canali ionici (del sodio, del calcio, del potassio) e sulla trasmissione glutammatergica (Johannessen, 2000), con cui promuove una spinta inibitoria a livello cerebrale. Può agire, inoltre, sui sistemi dopaminergici, serotoninergici e sui fattori trascrizionali, attraverso cui promuove l'attivazione antiapoptotica e proliferativa di proteine neurotrofiche, angiogeniche e neuroprotettive (Johannessen, 2000). Questo è possibile perché il VPA influenza l'espressione di molti geni associati alla sopravvivenza cellulare, all'omeostasi ionica, al controllo della trascrizione, alla trasmissione del segnale, ai cambiamenti del citoscheletro e, dato il gran numero di geni coinvolti, a lungo termine può intervenire anche sulla plasticità cerebrale (Johannessen, 2000).

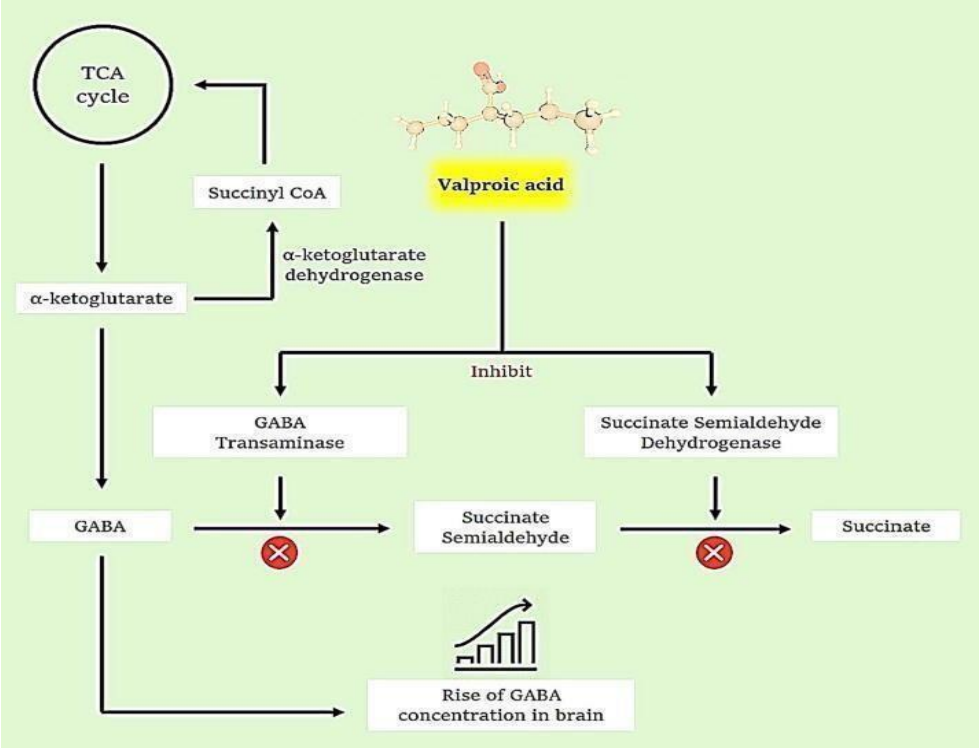
2.1 Spinta inibitoria del VPA: controllo diretto delle vie sinaptiche eccitatorie e inibitorie

Il VPA è il farmaco più comunemente usato nel trattamento dell'epilessia, grazie alla sua semplice struttura di acido grasso a breve ramificazione, che differisce in larga misura da quella ad anello eterociclico caratterizzante molti altri farmaci antiepilettici. Il VPA riduce l'eccessiva attività neuronale che caratterizza l'epilessia potenziando la trasmissione GABAergica, inibendo l'eccitazione neuronale legata all'attivazione dei recettori del glutammato (NMDA), riducendo così il rilascio di molecole eccitatorie e agendo sui canali ionici attraverso i quali attenua l'attivazione neuronale ad alta frequenza (Bourin, 2020).

2.1.1 Potenziamento dell'attività GABAergica

Il VPA potenzia l'attività inibitoria del GABA sia promuovendo la sintesi, sia inibendo la degradazione del neurotrasmettitore. Il farmaco agisce sia direttamente sui recettori GABA (GABA-A e GABA-B) facilitando le risposte indotte dai loro stimoli, che, a loro volta, promuovono la sintesi del neurotrasmettitore, sia indirettamente inibendo due categorie di enzimi che sono attivi a valle nel metabolismo del neurotrasmettitore, riducendone la degradazione (Bourin, 2020). Come illustrato

nella fig. 2, riportata da "*A comprehensive review on pharmacological applications and drug-induced toxicity of valproic acid* di Safdar et al., 2023", le categorie di enzimi coinvolti sono la GABA transaminasi (GABA-T) e il succinato semi-aldeide deidrogenasi (SSA-DH) (Rahman e Nguyen, 2021).



(Fig. 2: inibizione indiretta del GABA da parte VPA)

Studi farmacodinamici suggeriscono che questi effetti siano correlati ad alte dosi terapeutiche del farmaco (Johannessen, 2000).

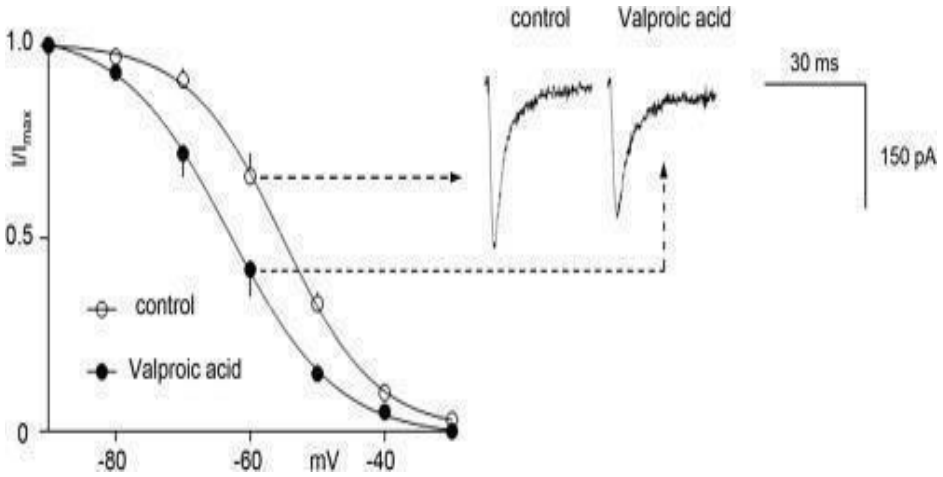
2.1.2 Riduzione dell'attività neuronale ad alta frequenza

Il VPA riduce l'attivazione ad alta frequenza dei neuroni bloccando i canali ionici del sodio voltaggio-dipendenti, sia a livello dei neuroni presinaptici che a livello dei neuroni post-sinaptici, i canali del calcio voltaggio-dipendenti (soprattutto di tipo T) a bassa soglia e i canali del potassio voltaggio-dipendenti, sui quali aumenta l'ampiezza delle correnti tardive verso l'esterno, promuovendo l'incremento della soglia per l'attività epilettiforme.

Si distinguono due tipi di canali al sodio voltaggio-dipendenti: canali al sodio sensibili alla tetrodotossina (TTX), che sono veloci e persistenti, e canali al sodio resistenti alla tetrodotossina (TTX).

È stato osservato che il VPA è in grado di ridurre la disponibilità dei canali al sodio sensibili alla tetrodotossina (TTX) nei neuroni ippocampali e corticali (Szulczyk, Nurowska, 2017).

Come illustrato nella figura 3, riportata da "*Valproic acid inhibits TTX – resistant sodium currents in prefrontal cortex pyramidal neurons* di Szulczyk e Nurowska, 2017, il farmaco nei neuroni della corteccia prefrontale induce lo spostamento della curva di inattivazione della corrente di sodio resistente alla tetrodotossina, verso l'iperpolarizzazione. Questo spostamento limita la disponibilità dei canali al sodio sensibili alla tetrodotossina nell'intervallo dei potenziali di membrana, diminuendo la depolarizzazione dei neuroni e quindi riducendo le scariche epilettiche patologiche. (Szulczyk e Nurowska, 2017)



(Fig. 3: spostamento della curva di inattivazione della corrente di sodio resistente alla tetrodotossina, verso l'iperpolarizzazione).

2.1.3 Regolazione della trasmissione di neurotrasmettitori eccitatori

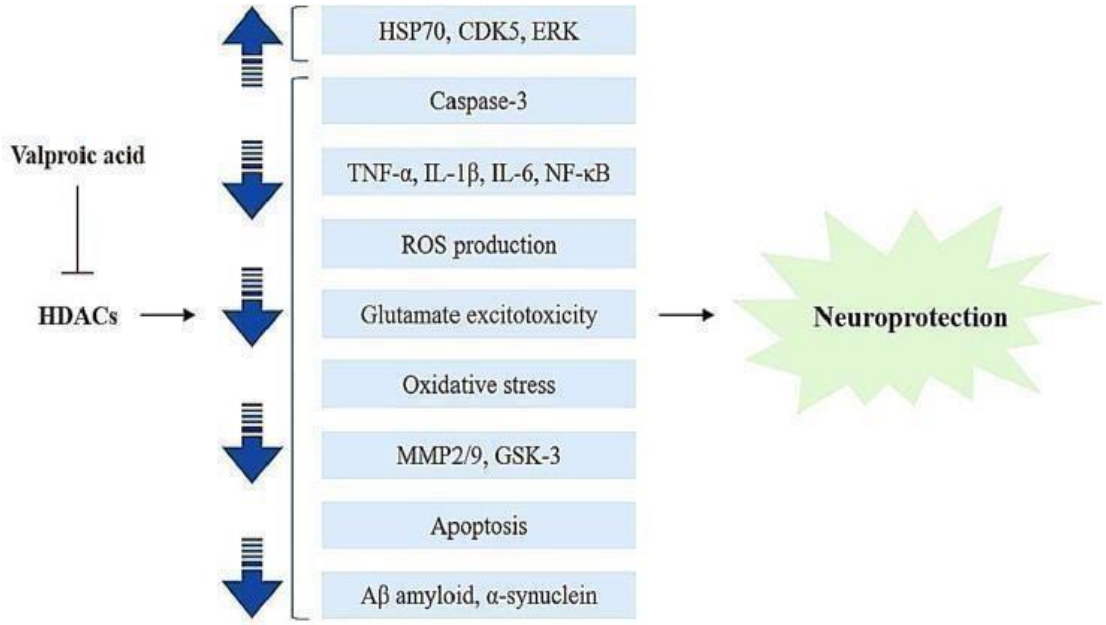
Gli effetti antiepilettici del VPA sono associati anche alla sua capacità di modulare la trasmissione dei neurotrasmettitori eccitatori. Il farmaco può regolare la diffusione del glutammato sia direttamente, attraverso la riduzione dell'attività dei recettori NMDA, sia in modo indiretto, riducendo l'espressione delle subunità del recettore, NR2A e NR2B (Romoli et al., 2019).

2.2 Meccanismi epigenetici del VPA: orientamento dei neuroni verso uno stato neuroprotettivo

Oltre agli effetti acuti a breve termine, il VPA ha anche conseguenze nel lungo termine, legate alla sua capacità di modulare l'espressione genica attraverso diversi meccanismi epigenetici. Il più studiato e confermato da evidenze scientifiche è il legame diretto del VPA con la famiglia degli enzimi dell'istone deacetilasi (HDAC) (Bourin, 2020).

2.2.1 Il VPA e l'enzima istone deacetilasi (HDAC)

Il VPA, imitando la tricostatina A, che è un inibitore di HDAC, blocca la famiglia degli enzimi istone deacetilasi, inducendo un'iperacetilazione degli istoni, soprattutto di H3 (Jeong et al., 2003). L'iperacetilazione, a sua volta, favorisce la decondensazione della cromatina con conseguente facilitazione della trascrizione del DNA all'interno di vie di segnalazione neurale che promuovono l'attivazione trascrizionale antiapoptotica. Come mostra la figura 4, riportata da "*A comprehensive review on pharmacological applications and drug-induced toxicity of valproic acid*, di Safdar et al., 2023", l'attivazione trascrizionale favorisce l'effetto neuroprotettivo del farmaco, sia contro lo stress ossidativo, sia all'interno dei meccanismi di controllo della qualità delle proteine, sia favorendo la trascrizione e l'espressione di elementi con un ruolo vitale nello sviluppo neurale e nella plasticità sinaptica (Safdar, et al., 2023).



(Fig. 4: blocco delle HDAC con conseguente attivazione di percorsi di sopravvivenza neurale e di fattori antiapoptotici).

La maggior parte di questi fattori sono ligandi della famiglia dei fattori neurotrofici derivati da linee cellulari gliali, come il fattore neurotrofico derivato dalla glia (GDNF), che è coinvolto nella crescita assonale, nella sopravvivenza e nella funzione sinaptica; dei fattori angiogenici, che aumentano la neurogenesi e la plasticità sinaptica, come il fattore di crescita dell'endotelio vascolare (VEGF); delle citochine neuropoietiche e del fattore neurotrofico di derivazione cerebrale (BDNF), coinvolto nella memoria e nell'apprendimento attraverso la neurogenesi e la neuroplasticità (Omata et al., 2009).

L'aumento dei livelli di BDNF è coinvolto nell'attivazione della via di segnalazione P13K/Akt/mTOR, nella quale il VPA aumenta la fosforilazione dei β, sia di Akt che della glicogeno

sintasi chinasi-3β (GSK-3β), un enzima coinvolto nella progressione del ciclo cellulare e nella struttura della sopravvivenza delle cellule neuronali. Questa via di segnalazione cellulare è legata all'espressione di fattori antiapoptotici, come la proteina Bcl-2, e di fattori di trascrizione associati alla sopravvivenza cellulare, come il CREB/cAMP (proteina legante l'elemento di risposta al campo). Attraverso l'aumento dei livelli della proteina antiapoptotica Bcl-2, il VPA è in grado di ridurre lo stress ossidativo causato dallo squilibrio tra le specie reattive dell'ossigeno e la capacità della cellula di estinguerle. Questa instabilità può sia danneggiare le proteine cellulari, i lipidi, il DNA e gli organelli come i mitocondri, sia causare l'attivazione di numerosi processi di segnalazione sensibili allo stress. Alcuni di questi processi sono coinvolti nell'autofagia, altri si sovrappongono alle vie di segnalazione di sopravvivenza (Hiroj et al., 2005).

L'attivazione del fattore di trascrizione CREB associata all'inibizione di GSK-3β, attiva la cascata MEK/ERK che ha un ruolo centrale nella neurogenesi, nell'arborizzazione dendritica, nella sopravvivenza, nella plasticità neuronale e nella motilità delle cellule mesenchimali mediata da CXCR4.

Negli ultimi venti anni, la migrazione delle cellule mesenchimali (MSC) sta mostrando un elevato potenziale per il trattamento di diverse malattie umane, tra cui l'ischemia cerebrale (Bang et al., 2005; Saroja, 2009), la sclerosi laterale amiotrofica (SLA) (Vercelli et al., 2008) e la sclerosi multipla (Bai et al., 2009). Nella regione cerebrale danneggiata, le cellule mesenchimali esercitano effetti terapeutici grazie alla sostituzione cellulare, all'immunomodulazione, alla loro azione trofica, alla neuroprotezione e alla stimolazione dell'angiogenesi (Lindvall et al., 2010). Queste cellule, dopo essere state trapiantate, devono trovare la loro strada verso i siti di bersaglio della malattia, ma la loro capacità di orientamento verso questi obiettivi è limitata (Parekkadan et al., 2010; Karp et al., 2009). Quindi, aumentando la loro capacità migratoria, le cellule possono raggiungere più facilmente le aree bersaglio, migliorando l'efficacia terapeutica complessiva del loro trapianto.

Il pathway ERK regola anche altri sistemi effettori a valle, come l'NF-kB, la chinasi ribosomiale S6 (RSK) e la proteina AP-1 (proteina attivatrice 1). L'NF-kB è un complesso proteico funzionante come fattore di trascrizione, coinvolto nelle reazioni delle cellule agli stimoli, come lo stress, le citochine, radicali liberi, irradiazioni con ultravioletti e attacchi provenienti dagli antigeni dei batteri o dei virus. Le sue disfunzioni sono collegate al cancro (come il mieloma multiplo), ai processi infiammatori, alle patologie autoimmuni, agli shock settici, alle infezioni virali e alle malattie del sistema immunitario. È coinvolto inoltre, nei processi di plasticità sinaptica e della memoria.

La proteina AP-1, essendo coinvolta nell'espressione dei geni che codificano le neurotrofine, i recettori e gli enzimi adibiti alla sintesi di neurotrasmettitori, è un fattore di trascrizione con importanti funzioni cerebrali, quali lo sviluppo, la plasticità e la neurodegenerazione. Alcuni dei geni coinvolti sono il gene c-jun, implicato in diversi effetti di lunga durata della proteina, come la crescita di neuriti, e la proteina GAP-43, una proteina di "crescita" o di "plasticità" espressa ad alti livelli nei coni di crescita neuronale durante lo sviluppo e la rigenerazione assonale. AP – 1, inoltre, è un eterodimero le cui subunità sono proteine coinvolte in molti percorsi di segnalazione cellulare e in famiglie di fattori di trascrizione attivanti (ATF).

L'aumento della fosforilazione di GSK-3β correla con l'attivazione della via di segnalazione Wnt/β-catenina che ha un ruolo importante nella regolazione della connettività neuronale nel sistema nervoso, nel controllo del rimodellamento degli assoni e nella formazione delle sinapsi. L'induzione di questo pathway promuove l'aumento degli accumuli citoplasmatici della β-catenina (fattore di trascrizione del pathway) che, in combinazione con il fattore di trascrizione specifico delle cellule T (Tcf/Lef), promuove la traslocazione nel nucleo, migliorando la trascrizione di diversi geni, come i fattori di crescita e i geni coinvolti nell'inibizione apoptotica.

Il VPA, attraverso l'inibizione di HDAC, determina anche la sovraespressione di HSP70, una famiglia di proteine coinvolta nella neuroprotezione del farmaco contro l'eccitotossicità del glutammato a breve termine (Marinova et al., 2009). Uno dei componenti molecolari delle HSP70 è il GRP78 che, legandosi al calcio, partecipa al ripiegamento delle proteine, svolgendo un ruolo nell'autofagia indotta dallo stress e proteggendo le cellule dagli effetti deleteri delle proteine mal ripiegate nel reticolo endoplasmatico. Quindi, il VPA attraverso la sovraespressione di questa famiglia di proteine, promuove la degradazione di proteine ripiegate in modo anomalo attraverso l'UPS (sistema ubiquitina-proteosoma) e l'autofagia (via autofagia-lisosomiale) (Marinova et al., 2009).

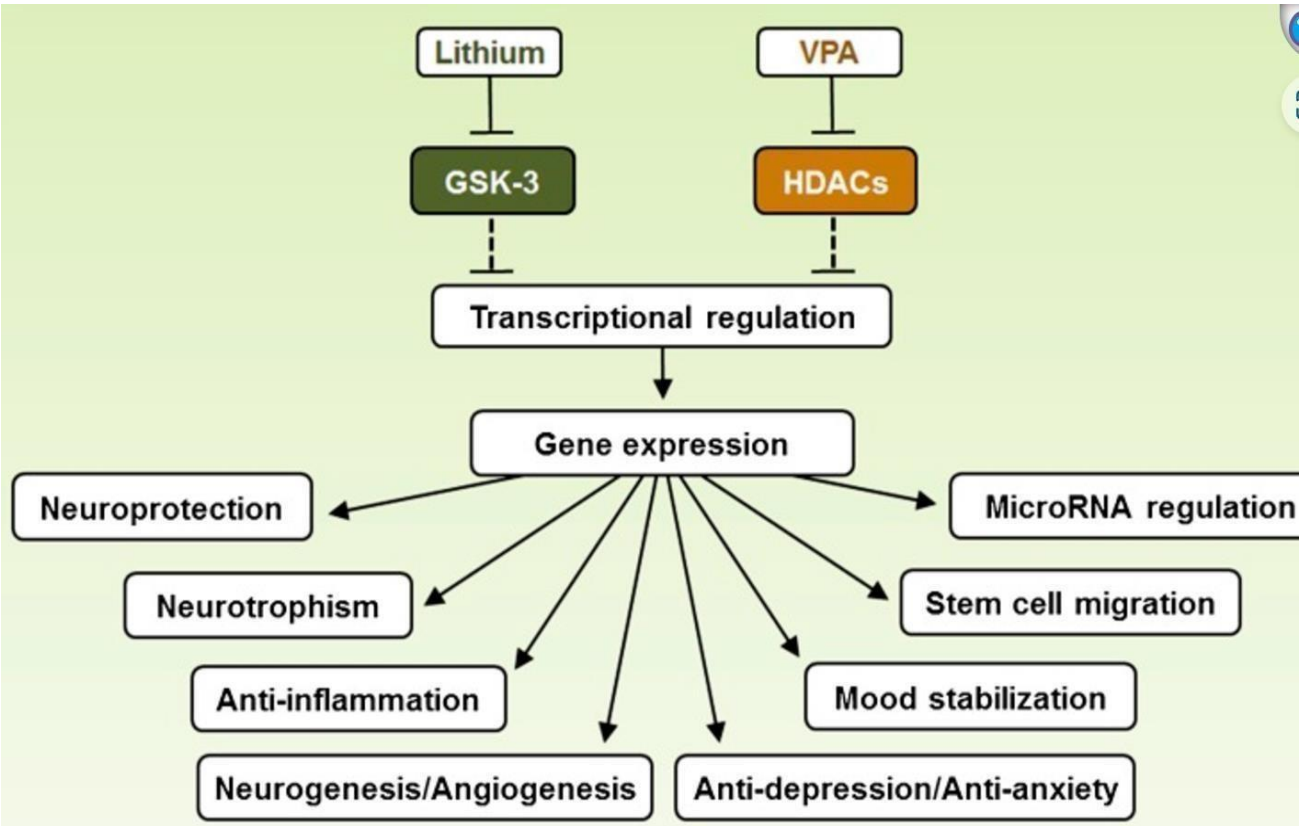
Il VPA agisce anche sulla via di segnalazione dell'inositolo, che è coinvolta in molti processi cellulari, come la neurotrasmissione, e sulla via di segnalazione dell'acido arachidonico che è legata a molti meccanismi cerebrali, come alcune neurotrasmissioni, l'eccitabilità e la fluidità della membrana, la trascrizione genica, la produzione di neuriti e il flusso sanguigno cerebrale, influendo sul sonno, sulla memoria e sul comportamento (Bourin, 2020).

L'acido arachidonico, i cui metaboliti sono considerati pro-infiammatori, durante un processo di malattia viene rilasciato in quantità maggiori dai fosfolipidi della membrana sinaptica attraverso l'attivazione dell'enzima PLA2 (fosfolipasi A2). I possibili livelli di inibizione possono essere il neurorecettore accoppiato alla PLA2, il meccanismo di accoppiamento con la cPLA2, l'acil CoA

sintetasi (Acsl) che, bloccando la reincorporazione dell'acido ne rallenta la sintesi e la formazione di PGE2 (Prostaglandina E2) che diminuisce l'attività della Cox2 (Cicloossigenasi 2) (Bourin, 2020).

2.2.2 VPA e litio: somiglianze e differenze nella modulazione dell'espressione genica per un potenziamento dei loro effetti terapeutici

Il peculiare ritardo nella risposta è una caratteristica che il VPA condivide con il litio, permettendo di supporre che entrambi i farmaci agiscano attraverso la modulazione dell'espressione genica. Come mostra la figura 5 riportata da *Therapeutic Potential of Mood Stabilizers Lithium and Valproic Acid: Beyond Bipolar Disorder,* di Chiu et al., 2013", i due farmaci hanno effetti comuni ma mediati da bersagli primari diversi (Chiu et al., 2013).



(Fig. 5: illustrazione schematica delle azioni molecolari del litio e dell'acido valproico)

Il litio, attraverso l'inibizione di GSK-3β e il VPA, attraverso l'inibizione della famiglia degli enzimi istone deacetilasi (HDAC) sono stati associati ad effetti neuroprotettivi, neurotrofici, antinfiammatori, neurogeni, angiogenici, di stabilizzazione dell'umore, antidepressivi, ansiolitici e di migrazione delle cellule staminali (Chiu et al., 2013).

Entrambi agiscono nella via di segnalazione dell'inositolo e nell'attivazione dell'espressione genica Tcf/Lef dipendente, sono coinvolti nell'attivazione dell'espressione genica Wnt dipendente accumulando β-catenina, possono ridurre l'espressione delle isoforme della protein chinasi C (PKCα e PKCβ), sono capaci di indurre l'espressione del gene anti-apoptotico bcl-2 e di fattori neurotrofici come il BDNF non solo nei neuroni, ma anche negli astrociti (Chen et. al., 2006). Oltre a ciò, sono implicati nell'induzione della proteina legante l'elemento di risposta al campo (CREB), nella trascrizione della proteina AP-1 e nell'espressione dei geni regolati dalla proteina, come il gene c-Jun. Entrambi intervengono nella migrazione delle cellule staminali, sulla quale il litio, differentemente dal VPA, agisce attraverso l'azione sulle proteine della metalloproteinasi-9 della matrice (MMP-9), per mezzo dell'inibizione di GSK-3β.

È stato osservato, inoltre, che entrambi sono in grado di agire sul fattore di rilascio della corticotropina (CRF), nonché il regolatore delle risposte allo stress, risposte endocrine, autonome e comportamentali. La somministrazione cronica di VPA e/o di litio può smorzare il tono generale della via centrale dello stress, correggendone l'alterazione presente nei pazienti con depressione maggiore o con disturbo da stress post-traumatico (Nath et al., 2023).

Questo legame peculiare può favorire una loro associazione per il raggiungimento di risultati più funzionali e per una riduzione degli effetti avversi, grazie alle dosi più basse che verrebbero somministrate per ottenere un beneficio clinico (Phiel et al., 2001). Gli effetti neuroprotettivi indotti nei neuroni intatti, co-trattati con il litio e VPA, sono strettamente associati ad un potenziamento dell'inibizione di GSK-3β, associata all'aumento della fosforilazione sia di α che di β e all'attenuata fosforilazione della proteina tau, un importante substrato di GSK-3β. Queste osservazioni suggeriscono che l'inibizione di GSK-3β può essere un bersaglio molecolare per la neuroprotezione potenziata (The BALANCE investigators and collaborators, 2010).

CAPITOLO TERZO

Ampio spettro delle applicazioni cliniche dell'acido valproico

3.1 Usi clinici del VPA: dagli utilizzi convenzionali al riposizionamento del farmaco

In una prima fase di impiego clinico, il VPA è stato somministrato come farmaco antiepilettico, successivamente come stabilizzante dell'umore nella terapia dei disturbi bipolari, nella profilassi dell'emicrania e nel trattamento del dolore neuropatico. Grazie ai risultati clinici ottenuti, è stato possibile rilevare gli effetti neuroprotettivi del farmaco nella gestione di queste malattie, a partire dai quali, è stato ipotizzato il suo utilizzo nella terapia di altre patologie, dalle malattie neurodegenerative alle neoplasie, in particolare il glioblastoma. Infatti, per merito dei progressi nella comprensione dell'eziopatogenesi delle patologie e delle strategie di riposizionamento farmacologico, sono stati individuati nuovipossibili bersagli per scoprire meccanismi di azione innovativi di farmaci già validati clinicamente (Aroosa et al., 2023). Queste ricerche sono finalizzate al raggiungimento di una terapia personalizzata e tempestiva, basata sulla correlazione fra i meccanismi di azione del farmaco e i processi di sviluppo della malattia, su cui la sostanza può agire in modo specifico, migliorando significativamente la qualità di vita del paziente e di conseguenza della sua famiglia (Aroosa et al., 2023).

3.2 VPA come antiepilettico

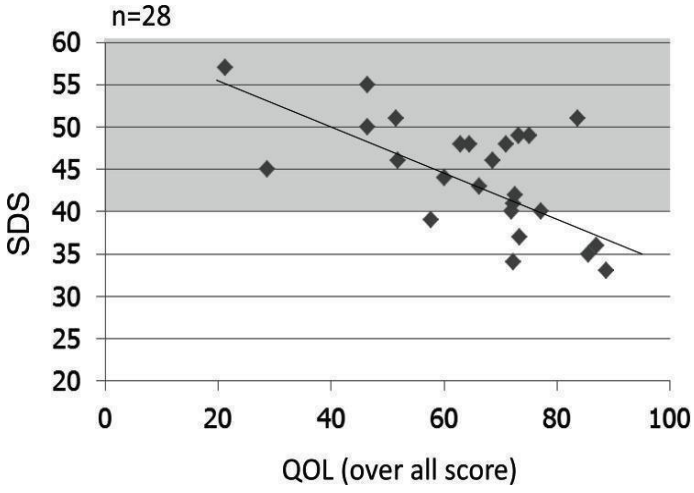
3.2.1 Epilessia: definizione e trattamento di prima linea

L'epilessia è una delle malattie neurologiche più comuni, il cui trattamento di prima linea consiste nella somministrazione dei farmaci antiepilettici (DAE) per il controllo delle crisi (Hanaya e Arita, 2016). Secondo la definizione rivista nel 2014 dalla "Lega internazionale contro l'Epilessia", la patologia è una malattia del cervello che soddisfa uno dei seguenti criteri:

- almeno due convulsioni non provocate (o riflesse) che si verificano a più di 24 ore didistanza l'una dall'altra;
- una crisi non provocata (o riflessa) con la probabilità di ulteriori crisi;
- una diagnosi di sindrome epilettica.

I DAE sono divisi in quattro gruppi: DAE di prima generazione, che comprendono anche il VPA, DAE di seconda generazione, DAE di terza generazione e DAE di postseconda generazione/i nuovi DAE. A differenza dei DAE tradizionali, i nuovi farmaci sono associati ad un rischio ridotto di interazione farmacologica e di insorgenza degli effetti avversi, favorendo l'aderenza al trattamento ed una politerapia più funzionale in caso di farmacoresistenza o di mancata risposta alla monoterapia (Hanaya e Arita, 2016). La maggior parte dei DAE agisce attraverso il canale al sodio o al calcio, oppure per mezzo della trasmissione GABAergica; hanno inoltre diversi siti di azione minori mediati da legami e profili unici con un potenziale neuroprotettivo antieccitotossico, che contrasta l'eccitotossicità determinata dagli insulti cerebrali, la cui probabilità di insorgenza aumenta all'aumentare della frequenza di ictus di tipo ischemico o emorragico, lesioni traumatiche cerebrali o tumori cerebrali.

Nonostante la riduzione delle convulsioni, la maggior parte dei DAE manca ancora di un chiaro potenziale antiepilettogeno, né sono in grado di contrastare il deterioramento psico-fisico e le comorbidità psichiatriche spesso associate all'epilessia, soprattutto nelle persone anziane (Hanaya e Arita, 2016). A tale riguardo, una recente meta-analisi ha rilevato la correlazione fra il trauma cranico associato all'epilessia e l'insorgenza di malattie neurologiche e psichiatriche (Hanaya e Arita, 2016). Come illustra il grafico della figura 6, riportata da "*The new antiepileptic drugs: their neuropharmacology and clinical indications"* di Hanaya e Arita, 2016, in cui il punteggio QOL indica la qualità della vita e il punteggio SDS (punteggio della scala di autovalutazione della depressione) superiore a 40 si riferisce alla tendenza depressiva, c'è una correlazione tra la gravità della depressione associata all'epilessia e il punteggio complessivo della qualità della vita.



(Fig. 6: qualità della vita e depressione nei pazienti con epilessia indotta da trauma cranico, visitati in ambulatorio)

3.2.2 VPA come antiepilettogeno

Il VPA è considerato un farmaco di prima scelta sia per il trattamento delle crisi epilettiche generalizzate in età adulta, sia di quelle forme di epilessia resistenti ai trattamenti farmacologici standard, come l'epilessia focale refrattaria, in cui le crisi, che originano da un'area specifica del cervello, non rispondono adeguatamente ai trattamenti farmacologici, continuando a manifestarsi (Romoli et al., 2019). Il VPA è efficace anche in alcune sindromi rare e gravi ad esordio infantile, come la Sindrome di West, la Sindrome di Lennox-Gastaut e la Sindrome di Dravet. Può essere utilizzato inoltre, in pazienti che devono essere sottoposti ad un intervento chirurgico a breve termine.

La regolazione fine della via glutammatergica e della via GABAergica, associata alle proprietà neuroprotettive del VPA, sono cruciali per la modulazione dell'epilettogenesi, cioè dei processi artificiali o spontanei che portano a convulsioni ricorrenti. I diversi meccanismi epigenetici del farmaco non solo favoriscono la riduzione delle convulsioni, ma permettono anche la regolazione della plasticità sinaptica, potenziando le funzioni intellettive e inibendo il danno neuronale alla base del deterioramento cognitivo e delle comorbidità psichiatriche, modificando il decorso naturale della malattia, soprattutto se somministrato tempestivamente (Verrotti et al., 2018). I meccanismi neuroprotettivi del VPA coinvolti sono diversi, tra cui l'up-regolazione delle proteine da shock termico, in particolare di HSP70, la riduzione dell'espressione e dell'attivazione della caspasi-3, la sovraregolazione del recettore delle purine attivato dall'ATP, il rilascio di TNF-α (fattore di necrosi tumorale), l'azione sulla microglia, la modulazione della sovraregolazione della via BDNF/TrkB, attraverso cui promuove la corretta ridistribuzione del fattore neurotrofico, ed il controllo dell'espressione di SCN3A che, essendo sovraespresso nei pazienti epilettici, conferisce un'elevata eccitabilità neuronale (Romoli et al., 2019).

3.3 VPA nella profilassi dell'emicrania e nel trattamento del dolore neuropatico

La fisiopatologia dell'emicrania offre uno stato di ipereccitabilità dovuto alla depressione corticale propagata. Il VPA, grazie al suo effetto sulla neurotrasmissione eccitatoria, sulle membrane eccitatorie e grazie alla sua influenza genomica, può normalizzare l'attivazione neuronale e aumentare il potenziale di azione soglia. Le risposte mediate dal GABA possono, invece, essere coinvolte nel dolore neuropatico (Romoli et al., 2019).

3.4 VPA come stabilizzante dell'umore

3.4.1 Disturbi bipolari: un'ampia eterogeneità clinica riflessa in trattamenti personalizzati

I disturbi bipolari (BD) sono un gruppo eterogeneo di gravi disturbi affettivi, generalmente descritti come un'alternanza di fasi causali e imprevedibili di tipo (ipo)maniacale, depressivo o misto

(coesistenza di sintomi depressivi e ipo-maniacali/maniacali in un'enorme varietà di combinazioni), intervallate da fasi eutimiche, la cui durata può ridursi progressivamente, portando il disturbo ad un decorso cronico incessante, con una frequenza maggiore di recidive ed una minore probabilità di risposta al trattamento farmacologico.

Il livello di gravità del disturbo correla con diversi fattori, tra cui un'importante compromissione psicosociale ed un'elevata comorbilità psichiatrica e fisica, associati ad un maggior rischio di suicidio e ad una ridotta aspettativa di vita (Weiss et al., 2023).

Fra le comorbilità più frequenti del BD ci sono il disturbo da deficit dell'attenzione/iperattività (ADHD) e il disturbo da uso di alcol (AUD). Queste condizioni mediche compresenti pregiudicano la fenomenologia clinica ed il decorso, sia del singolo disturbo sia del quadro clinico complessivo, complicando la gestione del paziente e l'aderenza al trattamento.

Il BD e l'ADHD, inoltre, sono spesso in comorbilità anche con i disturbi di personalità dei cluster A e B, in particolare con il disturbo di personalità antisociale e con il disturbo borderline di personalità.

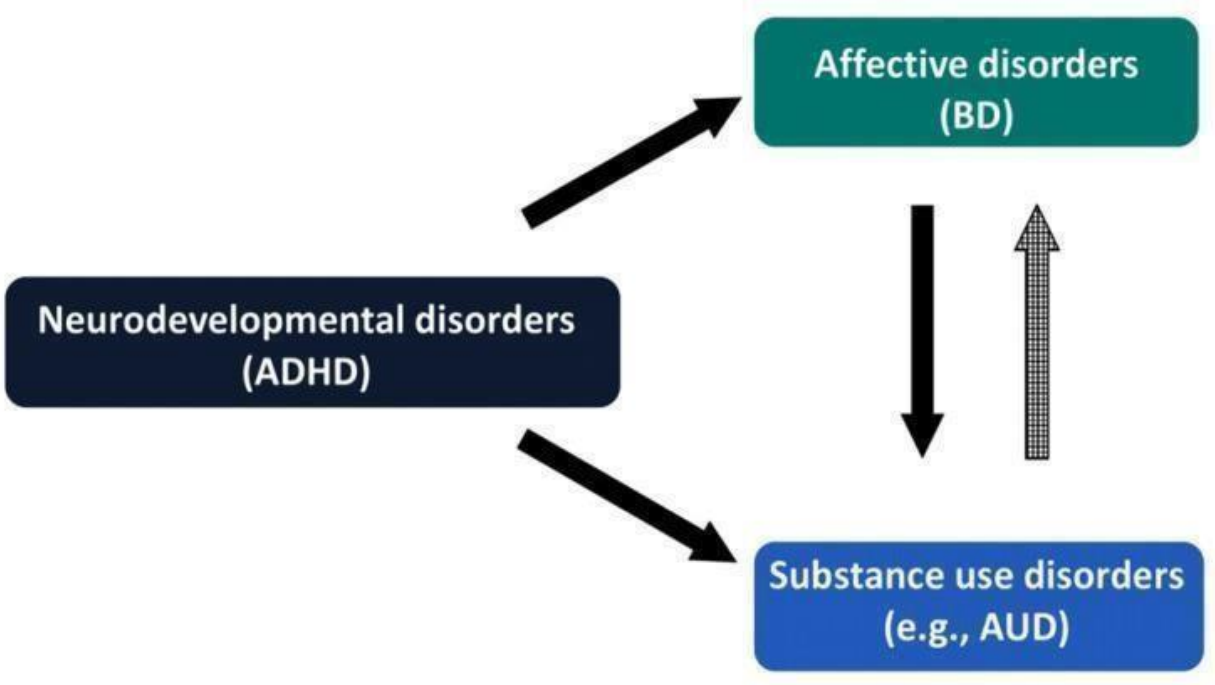
Un possibile percorso patogenetico che potrebbe legare il BD con l'ADHD e con l'AUD è il quadro teorico del "ciclo di dipendenza" di Koob e collaboratori. Secondo gli autori, il disturbo da uso di sostanze è una malattia cerebrale recidivante cronico progressiva, derivante da un circolo vizioso di tre momenti patogeni: disfunzione esecutiva, affettività negativa e salienza incentivante disordinata (desiderio e sindrome amotivazionale). L'ADHD è associato a gradi variabili di disfunzione esecutiva, disregolazione emotiva e anomalie del sistema di ricompensa (delay discounting: tendenza a sottovalutare una gratificazione ritardata, scegliendo l'adempimento immediato di ricompense più piccole, disadattive o improduttive). Potrebbe quindi, intercettare tutti e tre i momenti patogeni del disturbo da uso di sostanze, esacerbandone l'intensità.

Il BD è spesso associato a caratteristiche comportamentali interepisodiche e intraepisodiche che potrebbero promuovere l'inizio e la progressione del ciclo di dipendenza, a partire da una "sindrome da deficit di ricompensa", alla quale può collegarsi anche l'ADHD. Durante gli intervalli liberi, i pazienti con BD tendono a mostrare forti tratti temperamentali che potrebbero aggravarsi anche a causa dello stato di emotività negativa che definisce la dipendenza da sostanze.

Quindi, la comorbilità dell'ADHD con il BD potrebbe sovrapporre le variabili di stato del ciclo dell'umore alle variabili di tratto legate alle divergenze dello sviluppo neurologico e alle dimensioni temperamentali affettive (Weiss et al., 2023).

Come è illustrato nella fig. 7, riportata da "*Triple Diagnosis of Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder with Co- existing Bipolar and Alcohol Use Disorders: Clinical Aspects and*

Pharmacological Treatments, Weiss et al., 2023", è ragionevole delineare una traiettoria di malattia che parta dall'ADHD, si evolva in disturbi affettivi (in particolare il BD) e insieme predispongano all'insorgenza del disturbo da uso di sostanze.



(Fig. 7: triplice diagnosi di AUD, BD e ADHD)

L'esperienza clinica e le prove scientifiche dimostrano che trattare solo la condizione emergente, ignorando l'intero terreno psicopatologico, spesso può portare al fallimento del trattamento e quindi alla ricaduta del paziente. Trattamenti individualizzati focalizzati sia sui disturbi di stato legati al ciclo affettivo, sia sullo sviluppo neurologico, sia sulle caratteristiche dei tratti relativi alle dimensioni temperamentali producono, invece, risultati clinici più soddisfacenti e duraturi (Weiss et al., 2023).

L'eterogeneità delle presentazioni cliniche del BD, sia inter che intraindividuale, è apparentemente troppo ampia per essere contenuta all'interno di un'unica definizione scolastica. La gestione clinica deve essere, quindi, adattata ad ogni singolo paziente in un unico segmento della sua vita.
La presa in carico si articola in due momenti diversi: il trattamento degli episodi acuti, sia maniacali che depressivi, per permettere al paziente di tornare alla vita normale al più presto, e la prevenzione a lungo termine di ulteriori episodi, con lo scopo di prolungare il più possibile gli intervalli liberi.
I capisaldi della terapia, sia acuta che cronica, sono rappresentati dagli stabilizzanti dell'umore, soprattutto dal litio e dal VPA.
Il litio è stato il primo psicotropo con un'indicazione specifica per il BD di tipo I e II, in particolare per la mania acuta con caratteristiche tipiche e per i casi di comorbilità del BD con l'AUD, soprattutto

nella prevenzione delle ricadute depressive e del suicidio (Goodwin e Jamison, 2007). L'efficacia antimaniacale del litio tende, tuttavia, a ridursi negli stati misti, nei cicli rapidi e nelle recidive.

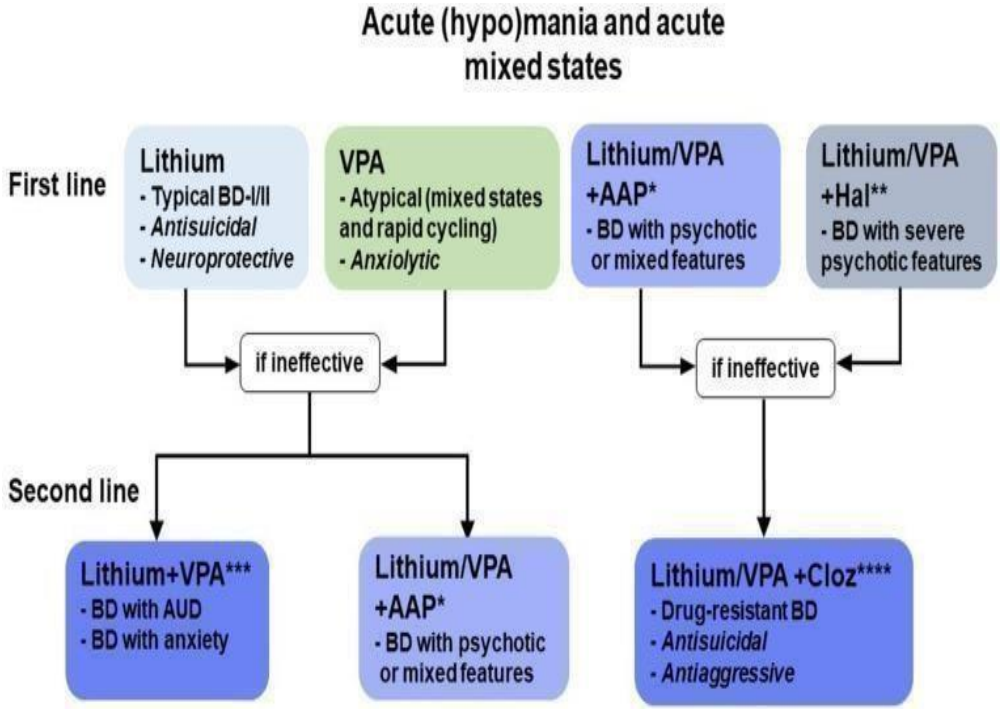
Il litio, inoltre, è un farmaco che viene somministrato per molti anni o per tutta la vita del paziente, pertanto il suo livello nel sangue deve essere regolarmente monitorato attraverso il TDM per controllare i suoi potenziali effetti dannosi, in particolare sulla funzione tiroidea e sulla funzionalità renale.

Per questo motivo, la migliore tollerabilità e la gestibilità del VPA nella pratica clinica lo rendono una valida alternativa, soprattutto nei pazienti che non tollerano le reazioni avverse al litio.

Il VPA è indicato nel trattamento acuto e cronico sia del BD da solo, nelle fasi maniacali e depressive delle forme atipiche e complicate, sia del BD in comorbilità con altri disturbi, soprattutto con i disturbi d'ansia, grazie ai suoi effetti sedativi ed ansiolitici, e con l'AUD, nel controllo dei sintomi di astinenza da alcol, dei sintomi sedativi-ipnotici e del rischio di ricaduta dell'abuso (agente anti-craving) (Carli et al., 2023).

Come illustra la fig. 8, riportata da "*Pharmacological Strategies for Bipolar Disorders in Acute Phases and Chronic Management with a Special Focus on Lithium, Valproic Acid, and Atypical Antipsychotics* di Carli et al., 2023", negli stati acuti di (ipo)mania e negli stati acuti misti, come trattamento di prima linea, è raccomandato l'utilizzo degli stabilizzatori dell'umore (litio o VPA).

Nei casi più gravi di permanenza dei sintomi residui, di comorbilità con sintomi psicotici o di ripresentazione dei pazienti entro uno/due anni, gli stabilizzatori dell'umore possono essere associati ai farmaci antipsicotici come trattamento aggiuntivo di prima o di seconda linea, in base alle caratteristiche del paziente in termini di risposta e di tollerabilità (Carli et al., 2023).



(Fig. 8: gestione acuta degli episodi ipomaniacali e maniacali dei disturbi dell'umore)

Gli antipsicotici si distinguono in antipsicotici tipici e antipsicotici atipici. Gli antipsicotici tipici bloccano i recettori D2 della dopamina ed hanno effetti acuti anti-maniacali e anti-psicotici (Tohen e Vieta, 2009). Gli antipsicotici atipici invece, non sono solo antagonisti dei recettori D2 della dopamina, ma bloccano anche i recettori della serotonina di tipo 2, in particolare dei recettori 5-HT2A e 5-HT2C (Markowitz et al., 2009; Meltzer et al., 1989).

Il blocco dei recettori serotoninergici permette di agire sulla neurotrasmissione della noradrenalina e della dopamina, attribuendo a questa categoria di farmaci un'apparente efficacia superiore come agenti stabilizzanti dell'umore, rispetto agli antipsicotici tipici (Blier e Szabo, 2005).

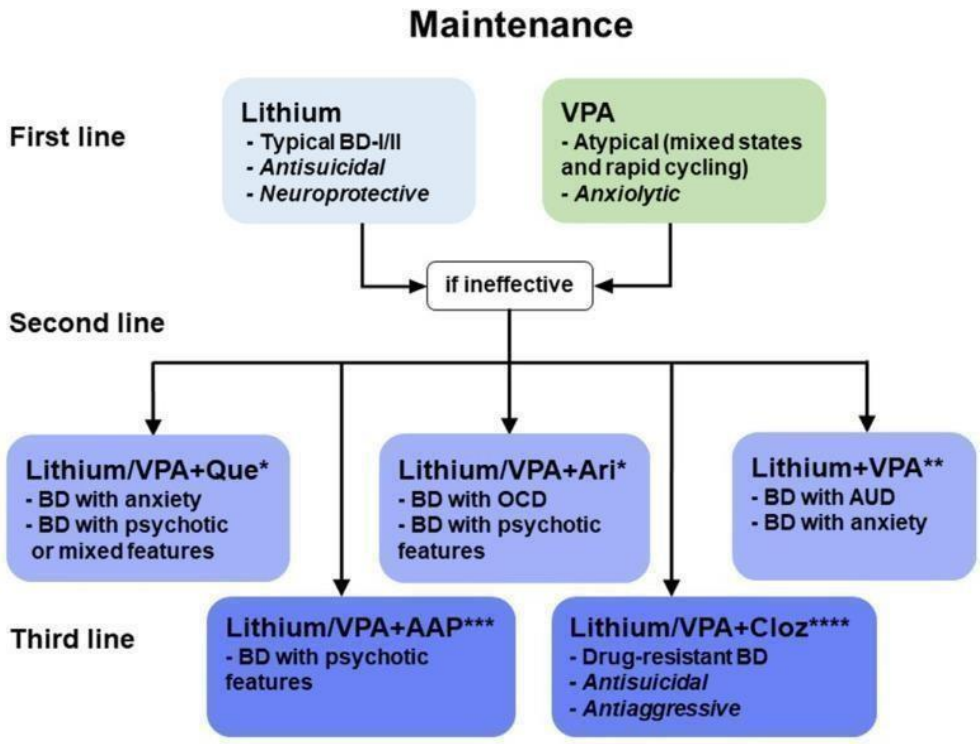
L'aripiprazolo è uno degli antipsicotici più frequentemente utilizzati nella pratica clinica per il suo ridotto rischio di aumento ponderale e di complicanze metaboliche, grazie al suo diverso meccanismo d'azione, che è caratterizzato da antagonismo serotoninergico (5-HT2A-C), agonismo parziale ai recettori D2/D3 e antagonismo istaminergico non trascurabile.

Ad alte dosi, in monoterapia o in politerapia con gli stabilizzatori dell'umore, è efficace nel trattamento acuto di BD con mania classica o stati misti, poiché migliora i sintomi dopo uno-due settimane (Carli et al., 2023).

In modo simile all'aripiprazolo, anche il risperidone è utilizzato nel trattamento acuto della mania. Nella gestione a lungo termine, invece, viene usato solo come trattamento di seconda linea, per il possibile impatto negativo della sua assunzione cronica sulla funzione cognitiva, sulla memoria, sul sistema cardiovascolare e sui sintomi di astinenza dal farmaco.

Un altro antipsicotico efficace per il trattamento delle fasi maniacali acute e miste, sia in monoterapia che in combinazione con gli stabilizzatori dell'umore è l'olanzapina che, insieme ad altri antipsicotici atipici come la quetiapina e l'aripiprazolo, ha dimostrato un ruolo anche nel miglioramento dei sintomi depressivi nella depressione maggiore resistente al trattamento e nella depressione bipolare, in particolare di tipo I. Rappresenta una soluzione alla gestione dei sintomi depressivi, dal momento che la somministrazione di antidepressivi è associata ad una maggiore probabilità di switch a ipomania/mania, a stati misti e/o a cicli rapidi.
Per quanto le politerapie siano più efficaci nel favorire più facilmente la remissione clinica dei sintomi, spesso possono causare un aumento delle reazioni avverse che devono essere attentamente valutate.

Come illustra la figura 9, riportata da "*Pharmacological Strategies for Bipolar Disorders in Acute Phases and Chronic Management with a Special Focus on Lithium, Valproic Acid, and Atypical Antipsychotics,* Carli et al., 2023", il trattamento cronico di prima linea dei BD è caratterizzato dall'utilizzo degli stabilizzatori dell'umore in monoterapia, in particolare il litio nei BD tipici e il VPA nelle forme atipiche.



(Fig. 9: gestione cronica dei BD)

In quadri clinici di comorbilità del BD, in cui le monoterapie hanno uno scarso successo, vengono somministrate strategie terapeutiche di seconda linea, nelle quali i due stabilizzanti dell'umore

vengono associati e la loro dose minima efficace viene ridotta, diminuendo significativamente il rischio di tossicità (Carli et al., 2023).

In caso di mancata risposta o di resistenza al trattamento, oppure di comorbilità del BD con aggressività/impulsività o con sintomi psicotici, possono essere utilizzati gli antipsicotici come strategia aggiuntiva, monitorando attentamente l'aumento del rischio di effetti avversi, in particolare in termini di disregolazione metabolica.
La quetiapina in combinazione con il litio o il VPA, grazie alle sue proprietà sedative, viene utilizzata nel trattamento off-label dell'insonnia e dell'agitazione. Le principali limitazioni al suo impiego a lungo termine sono gli effetti collaterali metabolici e cardiovascolari, che includono aumento di peso, alterato metabolismo del glucosio, dislipidemia e ipertensione.
Un'opzione sottoutilizzata nel trattamento del BD è la clozapina, che viene occasionalmente somministrata off-label per i suoi peculiari effetti anti-suicida, anti-aggressivo e leggermente antidepressivi, soprattutto per le fasi maniacali/miste che non rispondono alle altre strategie di trattamento.
Nonostante la sua valida efficacia, le rare, ma estremamente gravi reazioni avverse acute, come la leucopenia, la cardiomiopatia o l'agranulocitosi, hanno fortemente limitato l'uso della clozapina, declassandola alla terapia di seconda o terza scelta, come una sorta di trattamento "ultima possibilità" (Weiss et al., 2023).

Secondariamente alla terapia farmacologica, ci sono anche trattamenti di tipo psicoterapeutico rivolti al paziente e alla famiglia, finalizzati a far conoscere la malattia e insegnare ai pazienti a gestirla, a identificarla precocemente e ad assumere la terapia adeguatamente.

Fra questi ci sono la terapia cognitivo comportamentale, la psicoeducazione, l'iniziativa psicosociale e le terapie orientate alla famiglia.

3.4.2 Nuove opzioni di trattamento verso una gestione più efficace dei sintomi

Data la notevole eterogeneità clinica del BD, in un'ottica di terapia tempestiva e personalizzata, sono stati ipotizzati nuovi biomarcatori su cui possano agire diversi meccanismi farmacologici.

In molti studi preclinici, vari target intracellulari hanno mostrato ruoli di primo piano nella neuropatologia del disturbo, acquisendo il potenziale per essere sviluppati come nuovi bersagli terapeutici, fra i quali la neurotrasmissione glutammatergica e colinergica (che risultano alterate nel BD), la compromissione della regolazione circadiana, i processi infiammatori (per la depressione bipolare), la disregolazione di vie di segnalazione e dell'espressione genica, la perdita di plasticità

sinaptica, la diminuzione della resilienza cellulare, la riduzione della densità delle cellule cerebrali e le anomalie nella struttura e nella funzione neuroanatomica (Li et al., 2012).

3.4.3 Dalla modulazione del glutammato al targeting della trasduzione del segnale

La modulazione della neurotrasmissione glutammatergica, in quanto ridotta negli episodi depressivi, rappresenta un target del loro trattamento. Il blocco dei recettori NMDA, attraverso la somministrazione di loro antagonisti come il VPA, può, quindi, favorire l'aumento del rilascio del neurotrasmettitore. (Lopez – Gil et al., 2007; Moghaddam et al., 1997).

Sono stati proposti potenziali effetti antidepressivi sia da parte degli agenti recettoriali dell'AMPA, la cui azione neurogena e neuroprotettiva può contribuire alla regolazione dell'umore, sia da parte dei recettori colinergici.

Nei primi studi clinici in cui è stato valutato il ruolo del sistema colinergico nella funzione cognitiva dei pazienti depressi, in seguito alla somministrazione degli antagonisti del recettore muscarinico, è stata rilevata una riduzione dei sintomi depressivi in modo acuto e prolungato (Gillin et al., 1991; Newhouse et al., 1988). Questa riduzione è, tuttavia, legata ad inevitabili effetti negativi sulla cognizione e sulla memoria specialmente nei pazienti anziani (Molchan et al., 1992; Sunderland et al., 1985; Vitiello et al., 1997). Pertanto, prima della loro applicazione, è necessario considerare l'età, il deficit cognitivo prodromico e la pseudodemenza.

Recentemente, nel trattamento della depressione, è stato rafforzato anche il ruolo dei recettori nicotinici colinergici, a partire dal contributo diretto della nicotina che, attraverso l'attivazione dei neuroni dopaminergici dall'area tegmentale ventrale sul nucleo accumbens, modula la neurotrasmissione di glutammato, GABA, noradrenalina e dopamina, apportando significativi miglioramenti ai sintomi della depressione (Benowitz, 2009).

Un altro sintomo fondamentale dei disturbi dell'umore è l'alterazione del sonno e della regolazione circadiana. Nella fase maniacale è frequente la riduzione del bisogno di dormire; nella depressione invece, sono ricorrenti insonnia o ipersonnia (caratteristica della depressione atipica e della depressione bipolare).

Il sonno è regolato sia dall'equilibrio omeostatico, sia dall'orologio circadiano endogeno (Fuller et al., 2006), nonché dal sistema biologico che determina il modello temporale anche di altri processi fisiologici, come la temperatura, l'alimentazione, il rilascio di ormoni, le attività ritmiche del cuore e di altri organi. Nel sistema nervoso centrale e in tutto il corpo, un gruppo di geni circadiani si accende e si spegne in risposta a segnali esterni per resettare l'interruttore on/off e anche alla regolazione del feedback trascrizionale e traduzionale. Studi genetici, eseguiti anche sugli animali, hanno

recentemente fornito prove a dimostrazione che la variazione dei geni circadiani può far parte dell'eziologia dei disturbi dell'umore, costituendo una componente terapeutica nella loro gestione. Per esempio, la maggior parte degli stabilizzanti dell'umore, come gli antipsicotici di seconda generazione, il VPA e alcuni antidepressivi, hanno anche effetti normalizzanti del sonno, sebbene i meccanismi di azione varino notevolmente (Li et al., 2012).

L'influenza genomica del VPA, attraverso il coinvolgimento di fattori neuroprotettivi, anti-apoptotici, elementi di trascrizione e neurotrofici, può fornire informazioni sugli effetti terapeutici del farmaco sulla plasticità cerebrale, che nei disturbi dell'umore è alterata.

3.5 Nuovi indirizzi di ricerca sull'utilizzo clinico del VPA

3.5.1 VPA come antimicrobico

La resistenza agli antibiotici è un grave problema di salute pubblica, in particolare nei paesi in via di sviluppo, dove le malattie infettive continuano ad essere una delle principali cause di morte umana. In questa situazione clinica, l'utilizzo del VPA può rivelarsi fondamentale, dal momento che, tra gli altri anticonvulsivanti, ha mostrato una distinta attività antibatterica. In questo modo, può intervenire nel trattamento di specifiche infezioni batteriche (Singh et al., 2021).

3.5.2 VPA nel trattamento del sistema cardiovascolare

Il VPA, attraverso l'inibizione dell'istone deacetilasi, ha dimostrato il suo potenziale terapeutico anche nella disfunzione cardiaca, nel trattamento della cardiomegalia, dell'aritmia cardiaca, dell'ipertensione cardiaca e dell'infarto del miocardio. Li e colleghi, esaminando un modello di ratto di ipertensione nefrovascolare, hanno osservato che il VPA migliora l'insufficienza cardiaca congestizia, l'ipertrofia cardiaca e la fibrosi, inibendo la produzione di DAC8, HDAC2, TGF-β1 (fattore di crescita trasformante - β1) e di CTGF (fattore di crescita del tessuto connettivo) (Li et al., 2017). Anche Yang et al. hanno scoperto che il VPA, in quattro settimane, è in grado di cambiare il modo in cui funziona il ventricolo sinistro, rendendo il sistema nervoso simpatico meno attivo e rallentando il rimodellamento del cuore (Liu et al., 2017), mentre in otto settimane, può ridurre la fibrillazione atriale e il rimodellamento (Scholz et al., 2019). Tian et al. hanno scoperto che, somministrando il VPA, grazie al blocco dell'istone deacetilasi, e all'aumento dell'espressione del gene Foxm1, la dimensione degli infarti del miocardio diminuisce del 50%, così come la pressione arteriosa sistolica (Tian et al., 2019). È stato osservato anche che il VPA può inibire la disfunzione cardiaca indotta dalla sepsi, aumentando l'autofagia miocardica, attraverso il miglioramento dell'espressione di PTEN e la diminuzione della via AKT/mTOR (Shi et al., 2019).

3.5.3 VPA nella gestione delle malattie neurologiche e neurodegenerative

Prove crescenti dimostrano che il VPA, come il litio, possono avere un effetto neuroprotettivo specifico nelle malattie neurologiche e neurodegenerative (Chiu et al., 2013).

I due farmaci possono esercitare effetti benefici durante il complesso processo fisiopatologico post-ictus, tra cui neuroprotezione, miglioramento comportamentale, effetti anti-eccitotossici e anti-apoptotici, promozione della neurogenesi ippocampale e miglioramento della migrazione delle cellule staminali mesenchimali (Chiu et al., 2013).

Il litio può favorire il recupero funzionale post-ictus attraverso la sottoregolazione di p53, la sovraespressione di citochine e chemochine proinfiammatorie, che riducono la morte cellulare e favoriscono il recupero senso motorio, l'aumento dei livelli proteici di VEGF, che promuove il rimodellamento neurovascolare e l'induzione di HSP70, che promuove la neurogenesi ippocampale, favorendo il miglioramento dell'apprendimento spaziale, dei deficit della memoria, della sopravvivenza neuronale e della generazione di cellule neonate.

Per quanto riguarda il danno ischemico cerebrale, il VPA può modulare la neuroprotezione contro la perdita neuronale dell'ippocampo e contro i deficit cognitivi, attraverso l'upregolazione di HSP70, la protezione della barriera emato-encefalica (BBB), che nell'ischemia cerebrale è interrotta, la riduzione delle dimensioni dell'infarto e dei deficit neurologici correlati, l'inibizione dell'apoptosi indotta dall'ischemia, la diminuzione dell'attivazione microgliale e dei livelli dei fattori proinfiammatori.

Il farmaco, inoltre, può migliorare l'angiogenesi post ischemica attraverso l'aumento della densità dei microvasi, l'induzione della proliferazione delle cellule endoteliali, la sovraregolazione del flusso sanguigno cerebrale regionale nella corteccia omolaterale e l'accumulo nel lungo termine di HIF-1, fattore di trascrizione che facilita l'adattamento e la sopravvivenza dopo ipossia o ischemia (Ke e Costa, 2006). Questo rappresenta un importante vantaggio nel trattamento dell'angiogenesi post ischemica, dal momento che le terapie più diffuse approvate dalla Food and Drug Administration (FDA) hanno una finestra terapeutica ristretta.

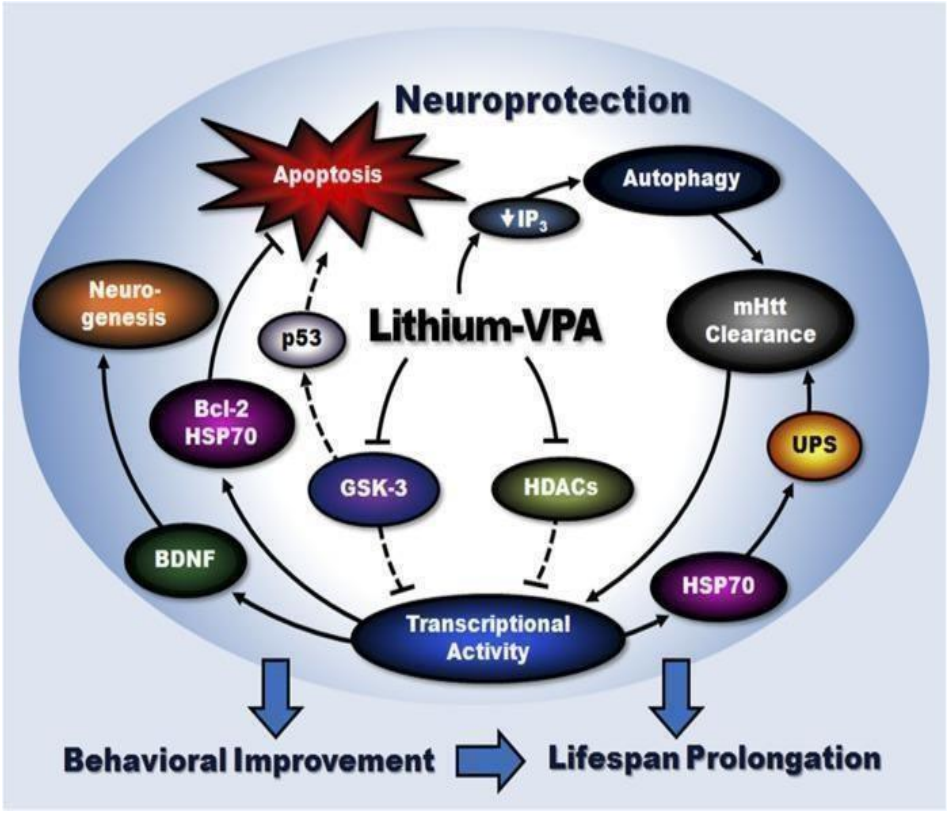
Molte prove dimostrano che il VPA e il litio possono essere validi candidati anche nel trattamento del trauma cranico (Chiu et al., 2023), la cui complessità eziopatogenetica richiede farmaci in grado di agire su più percorsi di sopravvivenza e di morte cellulare. Sia il litio che il VPA sono in grado di ridurre il volume della lesione indotta dall'impatto corticale, preservare l'integrità della barriera ematoencefalica (BBB) e attenuare la degenerazione ippocampale, garantendo un miglioramento dell'apprendimento spaziale, della memoria e dei deficit neurologici.

Il VPA può essere un potenziale candidato anche per il trattamento del disturbo di Parkinson, la cui presentazione clinica è caratterizzata principalmente da declino cognitivo, bradicinesia, rigidità, tremore a riposo e instabilità posturale, causati prevalentemente dalla degenerazione progressiva dei neuroni dopaminergici nella pars compacta della sostanza nera. Il trattamento di prima scelta si basa sulla sostituzione della dopamina con la L-DOPA che, tuttavia, nel lungo termine può perdere efficacia terapeutica, può sviluppare discinesie e manifestazioni non motorie. Sono necessarie, per questo, opzioni farmacologiche con una migliore efficacia terapeutica anche nel lungo termine. A tale proposito, è stato accertato che la somministrazione cronica del VPA, grazie ai suoi meccanismi epigenetici neuroprotettivi e antinfiammatori, può sia ridurre la degenerazione dei neuroni dopaminergici nella sostanza nera e nei terminali dopaminergici nello striato, sia aumentare l'espressione di α-sinucleina nella sostanza nera e nello striato (Ximenes et al., 2015).

Il VPA e il litio, grazie alle loro proprietà antieccitotossiche, potrebbero rappresentare un valore aggiunto nella cura della Malattia di Hungtinton per la quale, attualmente, non ci sono terapie specifiche, né trattamenti per rallentarne la progressione. È una malattia neurodegenerativa ereditaria, causata da un mutante anormalmente espanso (mHtt) che provoca la perdita selettiva di neuroni nel cervello, in particolare quelli spinosi di medie dimensioni nello striato e, in misura minore, i neuroni nella corteccia (Friedlander, 2003; Hickey e Chesselet, 2003). La presentazione clinica della malattia è caratterizzata da sintomi cognitivi, psichiatrici e fisici, tra cui perdita di memoria, cambiamenti di personalità, deterioramento emotivo e movimenti a scatti incontrollabili.

L'associazione di litio e VPA, agendo in modo più consistente sul GSK-3β e sull'enzima istone deacetilasi, promuove un'inibizione potenziata della via di segnalazione dell'inositolo, che garantisce il miglioramento della clearance di mHtt, riducendo la disregolazione trascrizionale e la tossicità correlata. Promuove, inoltre, un'espressione maggiore di proteine citoprotettive come il BDNF che, promuovendo neurogenesi, protegge dagli insulti neurochimici della malattia, e l'HSP70, che favorisce la trascrizione anti-apoptotica e la degradazione delle proteine mal ripiegate.

Nel loro insieme, i dati suggeriscono che il trattamento combinato può essere ancora più efficace, se somministrato precocemente nel corso della malattia (Chiu et al., 2011) e, come illustra la figura 10, riportata da "*Valproic Acid Modifies Synaptic Structure and Accelerates Neurite Outgrowth Via the Glycogen Synthase Kinase – 3B Signaling Pathway in an Alzheimer's Disease Model,* di Long et al., 2015", può apportare significativi progressi sui comportamenti, garantendo un importante miglioramento della qualità di vita dei pazienti e di conseguenza dei loro caregiver.



(Fig. 10: ipotetici effetti dell'associazione VPA-litio in modelli preclinici della malattia di Hungtinton)

L'associazione di litio e VPA incoraggia futuri studi clinici anche sul trattamento della SLA, una malattia neurodegenerativa ad esordio in età adulta, caratterizzata da danni alle cellule gliali circostanti, alle cellule muscolari, agli interneuroni e ai neuroni inibitori di Renshaw. Questi danni sono associati ad una progressiva perdita di motoneuroni nella corteccia motoria e nel midollo spinale con conseguente debolezza generalizzata, atrofia muscolare, paralisi e decesso, in molti casi, entro cinque anni dall'esordio dei sintomi (Rowland, 1994).

Il litio è stato coinvolto nel trattamento della SLA per la sua abilità nell'aumentare l'espressione di VEGF, che in questa malattia è sottoregolata, nell'inibire la via di segnalazione GSK-3β, che nella SLA è sovraregolata, (Caldero et al., 2010) e nell'indurre l'autofagia difettosa nei motoneuroni, migliorando la funzione motoria.

La somministrazione del VPA è stata incoraggiata in quanto associata al mantenimento dei livelli ridotti di acetilazione degli istoni nel midollo spinale, al ripristino dei livelli della proteina legante CREB, che nei motoneuroni del midollo spinale lombare è ridotta, al rallentamento della degenerazione dei motoneuroni (Rouaux et al., 2007; Crochemore et al., 2009) e all'aumento dell'espressione della proteina SMN, che è il gene codificante per la proteina del motoneurone di sopravvivenza responsabile dell'atrofia muscolare spinale (Lefebvre et al., 1995).

I due stabilizzanti dell'umore sono inclusi nel trattamento di altre due patologie: la Sindrome dell'X Fragile e la malattia di Alzheimer.

La Sindrome dell'X Fragile è una patologia causata da una mutazione completa del gene Fragile X Messenger Ribonucleoprotein 1 (FMR1). La presentazione clinica della patologia è caratterizzata da disturbi cognitivi, convulsioni, comportamenti autistici, sintomi attentivi e di iperattività simili all'ADHD (Baumgardner et al., 1995). Il VPA, grazie alla sua capacità di riattivazione del gene mutato, può essere selezionato come farmaco funzionale alla terapia, in qualità di stabilizzante dell'umore e di agente neuroprotettivo in grado di migliorare i sintomi comportamentali e psichiatrici associati.

Un'altra componente fondamentale della patologia è l'iperfosforilazione di GSK-3β, che rende anche il litio un buon candidato per il suo trattamento (Mines e Jope, 2011), attraverso l'inversione dell'aumento del tasso di sintesi proteica cerebrale e la correzione dell'alterazione genica. Questo migliora la morfologia aberrante della spina dendritica, le interazioni sociali carenti e la ridotta capacità di apprendimento (Min et al., 2009, 2010; Liu et al., 2011).

La malattia di Alzheimer è una patologia neurodegenerativa cerebrale irreversibile, caratterizzata da deficit cognitivi progressivi, compromissione della memoria e cambiamenti comportamentali, correlati ad un neuroimaging che rappresenta una riduzione delle regioni cerebrali coinvolte nell'apprendimento e nella memoria, a causa della perdita sinaptica e neuronale. Istologicamente, la malattia mostra sia placche senili extracellulari, composte principalmente da amiloide β-peptide/Aβ (precursore dell'amiloide che può influenzare il trasporto assonale), sia grovigli neurofibrillari intracellulari (NFT), composti principalmente da tau iperfosforilato in modo anomalo. È una malattia complessa, i cui meccanismi molecolari sottostanti non sono stati ancora completamente compresi, quindi attualmente mancano trattamenti efficaci. È stato ipotizzato che l'accumulo di Aβ sia il fattore chiave determinante una cascata di eventi neuropatologici che, a loro volta, portano ad alterazioni della tau, a disfunzione sinaptica e a morte dei neuroni. Il modo con cui la sovraproduzione di Aβ porti al deterioramento cognitivo e ai processi patologici rimane però sconosciuto. Pertanto, l'identificazione delle vie di segnalazione alla base della patogenesi può contribuire alla progettazione di strategie per prevenirla o curarla. A tale proposito è stato proposto un ruolo cruciale della localizzazione alterata o attivazione anomala della via di GSK-3β, coinvolta nella formazione dei grovigli neurofibrillari intracellulari, nell'elaborazione del precursore dell'amiloide e nell'inibizione dell'espressione di fattori di trascrizione, che influenzano negativamente la plasticità neuronale e la memoria (Chiu et al., 2023).

È stato dimostrato che il VPA ed il litio, attraverso l'inibizione del GSK-3β, possono bloccare la produzione di Aβ, ridurre la fosforilazione della tau, arrestare lo sviluppo di grovigli neurofibrillari, promuovere l'ubiquitinazione e diminuire le lesioni indotte dalla tau. I farmaci, inoltre, attraverso il recupero dei livelli β-catenina nel cervello, sono stati associati ad effetti neuroprotettivi contro la neurodegenerazione ippocampale. Questo migliora l'apprendimento, la memoria e i deficit di apprendimento spaziale (Long, 2015).

Viene studiato soprattutto il VPA che, essendo un inibitore dell'enzima istone deacetilasi, può regolare l'acetilazione degli istoni, la cui alterazione compromette la memoria e la patogenesi delle malattie neurodegenerative. Il VPA può, inoltre, aumentare i livelli di CREB e di BDNF, salvando la struttura sinaptica dell'ippocampo e stabilizzando l'integrazione strutturale delle cellule. Il VPA agisce anche come potente induttore della secrezione di clusterina (Nuutinen et al., 2010) presente in quantità maggiori nelle placche neuritiche, migliorando così la clearance dell'Aβ nel cervello.

Nonostante i molteplici effetti benefici del VPA rilevati, in monoterapia e/o in associazione al litio, sono necessari ulteriori studi clinici per determinarne il potenziale terapeutico nello spettro delle malattie neurologiche e neurodegenerative, dal momento che non si ha ancora chiarezza dell'eziopatogenesi di queste patologie, dei bersagli farmacologici che potrebbero essere coinvolti nel trattamento e del dosaggio farmacologico appropriato per la realizzazione dell'efficacia terapeutica del VPA. Il rischio è di indurre effetti avversi che, a dosi tossiche del farmaco, possono verificarsi rapidamente annullando significativamente i risultati benefici della gestione a lungo termine (Chiu et al., 2023).

3.6 Effetti avversi del VPA: dalle reazioni cutanee alla teratogenicità

Sebbene il VPA abbia un profilo di tollerabilità favorevole, il suo uso potrebbe essere limitato dall'insorgenza di reazioni avverse (Romoli et al., 2019), tanto che trovare l'equilibrio tra gli effetti benefici e quelli avversi rappresenta una sfida di gestione clinica del farmaco, difficile e complessa (Safdar et al., 2023).

Quasi il 20% del trascrittoma può essere alterato dal VPA in modi tessuto-specifici. Per questo, attualmente, è difficile prevedere tutti gli effetti avversi. I più comuni sono generalmente risolvibili con un aggiustamento della dose del farmaco o con la sua interruzione. Alcuni dei più complessi, invece, sono elencati nella tabella rappresentata nella figura 11, riportata da *"A comprehensive review on pharmacological applications and drug-induced toxicity of valproic acid,* Safdar et al., 2023.

Un elenco di effetti avversi classificati osservati con il farmaco a base di acido valproico.

Effetti avversi	Pervasività	Riferimento
Aumento di peso	14 % di variazione della classe di peso	(Grosso et al., 2009)
Parkinsonismo	1.37–5.04 %	(Jamora et al., 2007)
Anemia aplastica	Vita 9 volte	(Handoko et al., 2006)
Malattia di von Wilbrant	67 % di prevalenza nei bambini e 16 % negli adulti	(Gerstner et al., 2006)
Carenza del fattore XIII	4 %	(Gerstner et al., 2006)
Diminuzione del tasso di fertilità	25 %	(Ornoy et al., 2020)
La diminuzione della durata del sonno dopo la conclusione del trattamento	Da 15 a 45 min/giorno	(Schmitt et al., 2009)
Epatotossicità nei bambini	0.16 %	(Hani e Husain, 2018)

(Fig. 11: alcuni degli effetti avversi del VPA)

Agli effetti avversi meno gravi appartengono reazioni collaterali dermatologiche (alopecia/eruzione cutanea), vertigini, problemi di memoria, insonnia, nistagmo, cefalea, confusione, atassia, irritabilità, sonnolenza o stanchezza. Di solito si manifestano nel primo mese di trattamento, per trovare una risoluzione spontanea nei mesi successivi. Negli effetti avversi più complessi, invece, possono rientrare disturbi dell'andatura, parkinsonismo, tremore posturale (spesso simile al tremore essenziale) anomalie ematologiche, disturbi gastrointestinali (dolore addominale e dolorabilità), che devono essere considerati come segnali di allarme per una possibile pancreatite soprattutto nella popolazione pediatrica, aumento di peso, epatotossicità, tossicità riproduttiva, nefrotossicità e teratogenicità.

3.6.1 Aumento di peso

L'aumento di peso è il più noto effetto avverso del trattamento, che porta alla non aderenza e a possibili problemi di salute legati alle anomalie metaboliche, come iperammoniemia o ipocarnitinemia, Il meccanismo specifico non è stato ancora identificato, ma diversi studi riportano un'associazione tra iperinsulinemia, dislipidemia, obesità, soprattutto viscerale, e insulino-resistenza che si alimentano reciprocamente. Anche i meccanismi epigenetici partecipano all'aumento di peso,

in quanto il VPA induce la trascrizione di geni che codificano per la massa grassa e per le proteine associate all'obesità (FTO) (Safdar e Ismail, 2023).

Questo effetto avverso è più frequente nelle pazienti donne, nelle quali si osserva un significativo effetto dannoso sull'aderenza alla terapia, e negli adolescenti in cui può causare gravi disturbi psicologici e anomalie endocrinologiche (Moavero et al., 2018).

3.6.2 Epatotossicità

Le caratteristiche tipiche della tossicità epatica includono apatia, sonnolenza, alterazione dello stato mentale, anoressia, vomito, ittero e, talvolta, peggioramento delle convulsioni. Il quadro clinico può progredire verso l'atassia grave, lo stupore o il coma. Le alterazioni neurocomportamentali possono essere erroneamente attribuite a effetti post ictali, disturbi psichiatrici o a stato epilettico non convulsivo, portando così ad un aumento inappropriato dei dosaggi del farmaco.

Il meccanismo suggerito di epatotossicità indotta dal VPA supporta la formazione di intermedi reattivi per impedire l'ossidazione β, con conseguente steatosi e disfunzione mitocondriale che induce una rapida produzione di specie reattive dell'ossigeno (ROS) (Chiu et al., 2023).

Il rischio di epatotossicità è più alto nei bambini di età inferiore a due anni, soprattutto se affetti da gravi disturbi convulsivi o da altre malattie neurologiche entro i primi sei mesi dall'inizio del trattamento con VPA.

I test di funzionalità epatica, attraverso screening con esami del sangue, vengono effettuati a partire dai primi mesi della terapia e regolarmente, almeno due volte l'anno, per la durata del trattamento. Pertanto, il VPA è controindicato in tutte le condizioni che espongono ad un rischio più elevato di epatotossicità, in particolare in caso di coesistenza di disturbi metabolici e malattie mitocondriali.

3.6.3 Tossicità per la riproduzione

Nell'essere umano, il VPA può causare anomalie endocrine in entrambi i sessi. Nelle donne sono stati rilevati iperandrogenismo, problemi mestruali, sindrome dell'ovaio policistico e insufficienza ovarica. Negli uomini invece, possono essere presenti anomalie nella motilità degli spermatozoi e nei livelli di androgeni nel sangue, diminuzione del volume testicolare (Eklioglu e Ilgin, 2022) e disfunzione erettile (Verrotti et al., 2016). La tossicità riproduttiva indotta dal farmaco è stata collegata allo stress ossidativo determinante l'apoptosi sia nei testicoli che nei follicoli medi e piccoli, insieme al danno al DNA spermatico (Khan et al., 2011). È stato anche dimostrato il coinvolgimento del fattore di trascrizione NF-kB, mediatore dell'infiammazione (Savran et al., 2020).

3.6.4 Nefrotossicità

Nei topi, è stato osservato che il VPA può provocare stress ossidativo, carenze mitocondriali, carenza di carnitina, fibrosi e infiammazione nel tessuto renale (Hamed, 2017). In altre indagini il farmaco è stato collegato a significative anomalie cromosomiche, alterazioni dell'indice mitotico e cambiamenti istologici nel tessuto renale, che ne indicano il potenziale genotossico (Galaly et al., 2014). In associazione alla terapia del VPA è stata dimostrata anche la Sindrome di Fanconi, in particolare nei bambini epilettici, che è causata dal malfunzionamento, indotto dal farmaco, dei tubuli renali prossimali (Adewole et al., 2021).

3.6.5 Teratogenicità

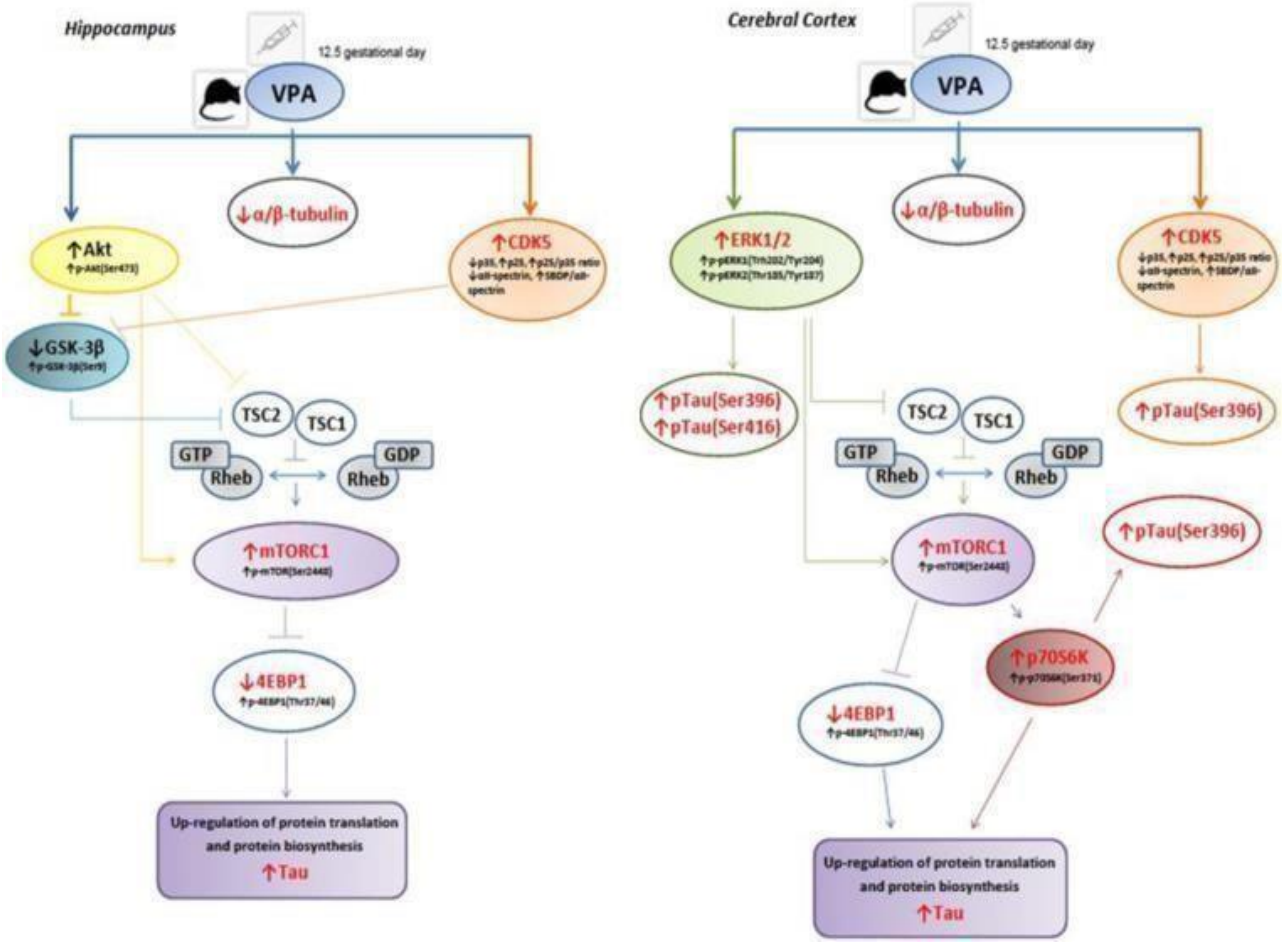
Il VPA può attraversare la placenta e causare uno spettro di anomalie congenite, soprattutto quando viene somministrato in associazione ad altri anticonvulsivanti. Per questo motivo, nonostante l'importanza clinica, presenta controindicazioni per l'assunzione durante il primo trimestre di gravidanza, quando inizia l'organogenesi e la chiusura del tubo neurale è estremamente sensibile al suo metabolita (Brotzmann et al., 2021). Il farmaco può aumentare il rischio di anomalie congenite, fra cui difetti della chiusura del tubo neurale o difetti cardiovascolari (spina bifida, labiopalatoschisi, distorsione scheletrica o degli arti, deformità cardiache), schisi orofacciale, ipospadia, atresia del tratto gastrointestinale, ernia diaframmatica, craniosinostosi, ritardo della crescita, mancata rotazione dell'embrione e disturbi dello sviluppo neurologico legati all'inibizione della famiglia degli enzimi istone deacetilasi, in quanto questi ultimi sono estremamente importanti nell'embriogenesi di numerosi organismi. Tra i disturbi più frequenti ci sono l'autismo, i deficit sociali, i deficit motori e i deficit cognitivi.

Il disturbo dello spettro autistico è una condizione neuroevolutiva, caratterizzata da carenze nell'interazione sociale e nella comunicazione, anomalie nella reattività sociale, comportamenti ripetitivi e stereotipati. Infatti, in uno studio condotto in un campione di ratti autistici, indotti dall'esposizione prenatale al VPA, nella loro corteccia cerebrale e nel loro ippocampo sono stati osservati cambiamenti istopatologici (cromatolisi), come assoni più spessi, distesi e con molti vacuoli gonfi. Sono anomalie che, secondo Hara et al., (2012), possono essere coinvolte nei deficit di interazione sociale (Dobrowolska et al., 2021).

Un'altra caratteristica del disturbo dello spettro autistico è l'alterazione della densità e della morfologia delle spine dendritiche, associata a disturbi della plasticità sinaptica. A tale riguardo, è stato indicato che l'esposizione materna al VPA può indurre cambiamenti istopatologici nei neuroni della corteccia cerebrale e dell'ippocampo, diminuendo drasticamente il livello di α/β tubulina e accumulando

significativamente, in entrambe le strutture cerebrali, la proteina Tau associata ai microtubuli. Nell'ippocampo è legata alla deregolamentazione del pathway Akt/GSK-3β/mTORC1 e all'attivazione di CDK5, nella corteccia cerebrale, invece, oltre all'attivazione di CDK5 e di p70S6K, è coinvolta anche la segnalazione MAPK–ERK1/2/mTORC1, in cui mTORC1 attivato viene meno al suo ruolo di regolatore positivo della traduzione proteica e di inibitore del processo di autofagia.

Il diagramma schematico della figura 12, riportata da "*Alterations in Tau Protein Level and Phosphorylation State in the Brain of the Autistic-Like Rats Induced by Prenatal Exposure to Valproic Acid*, di Dobrowolska et al., 2021" illustra questi effetti nel cervello della prole di giovani maschi adulti, in cui l'esposizione precoce al VPA dà origine ad una diminuzione significativa del livello di α/β-tubulina e all'aumento eccessivo del livello di Tau totale nell'ippocampo e nella corteccia cerebrale, attraverso meccanismi diversi. (Dobrowolska et al., 2021).



(Fig. 12: conseguenze dell'esposizione prenatale al VPA)

Tutti questi effetti possono contribuire ad una destabilizzazione e quindi ad una disfunzione della rete del citoscheletro. Dal momento che gli elementi citoscheletrici, inclusi i microtubuli (MT) e le proteine associate ai microtubuli (MAP), sono fondamentali per lo sviluppo e la stabilizzazione dei

processi assonali e dendritici, la loro destabilizzazione può degenerare in un disturbo nella struttura e nella funzione sinaptica, che provoca alterazioni della neuroplasticità nello sviluppo di comportamenti di tipo autistico.

In particolare, gli MT sono polimeri intracellulari altamente dinamici, essenziali per la crescita, la morfologia, la migrazione e la polarità neuronale. La loro struttura e la loro dinamica sono regolate dalle modifiche post-traduzionali della tubulina e di diverse proteine che interagiscono con loro. Tra queste la Tau, che consente il trasporto assonale di molecole segnale e di fattori trofici e partecipa ai processi di crescita dei neuriti e della sinaptogenesi (Dobrowolska et al., 2021). Una sua anomala fosforilazione, invece, potrebbe predisporre il cervello alla sua aggregazione e al suo accumulo in individui più anziani, portando potenzialmente allo sviluppo di malattie neurodegenerative. Infatti, è stato indicato che oltre il 10% delle persone con diagnosi di autismo, dai 40 ai 60 anni, sviluppa una condizione di demenza entro 15 anni.

Un recente studio su una coorte geriatrica con decadimento cognitivo lieve o demenza precoce ha dimostrato che i comportamenti di tipo autistico possono apparire de novo nella demenza degenerativa e che sono più prevalenti nei pazienti con demenza ad esordio precoce. Lo stesso gruppo di ricerca, tramite autopsia in soggetti con demenza sviluppata in tarda età, ha indicato anche una correlazione di comportamenti simili all'autismo con un aumento dei livelli di Tau e patologia neurofibrillare nei lobi frontali.

A tale proposito, ci sono indicazioni che suggeriscono che la "proteina dell'Alzheimer" possa rivelarsi un potenziale bersaglio per i trattamenti dell'autismo, visto che una riduzione genetica dei livelli di Tau allevia i sintomi tipici di tale patologia (Dobrowolska et al., 2021).

Studi di analisi immunocitochimica hanno dimostrato che anche la somministrazione postnatale precoce di VPA può determinare un ritardo della crescita assonale specifica dei neuroni GABAergici ed una diminuzione delle sinapsi VGAT positive. Dal momento che il disturbo dell'eccitatorio e dell'inibitorio è implicato nella potenziale causa di molteplici disturbi psichiatrici, questo effetto del VPA potrebbe spiegare uno dei meccanismi cellulari alla base della patogenesi dei deficit neuroevolutivi indotti dal farmaco stesso, come la disabilità intellettiva (Kumamaro et al., 2014).

Nel 2014, l'Agenzia Europea per i Medicinali (EMA) ha limitato l'uso del VPA anche negli uomini in età fertile, per ridurre il potenziale incremento del rischio di disturbi del neurosviluppo in bambini nati da uomini trattati con VPA nei tre mesi precedenti al concepimento. I medici devono informare i pazienti di sesso maschile, che stanno assumendo questo farmaco, del possibile rischio e della necessità diconsiderare una contraccezione efficace, sia per il paziente stesso

che per la sua partner donna (EMA, 2024). Nel caso in cui il paziente stia pianificando di concepire un bambino, la scelta più appropriata è rappresentata dalla monoterapia con basse dosi di levetiracetam o lamotrigina. È importante prestare attenzione, inoltre, al monitoraggio del farmaco nel suo uso off-label, in cui viene utilizzato al di fuori delle indicazioni tipiche, con un potenziale rischio di minore sorveglianza sulle reazioni avverse, sia a breve che a lungo termine (Romoli et al., 2019).

CAPITOLO QUARTO

Meccanismo antitumorale dell'acido valproico: un nuovo ruolo per un vecchio farmaco?

4.1 Cosa è il cancro

Il cancro è definibile come una patologia dei geni, generalmente non ereditaria, perché la presenza di una mutazione genetica trasmessa dai genitori ai figli non determina inevitabilmente la malattia o il fatto di esserne portatore sano, ma esistono alcuni fattori che possono predisporre ad un maggior rischio di insorgenza. (AIRC, 2023).

Nel corso della vita, i geni delle nostre cellule tendono ad accumulare spontaneamente numerose mutazioni che possono essere acquisite/non ereditabili (dovute a fattori esterni, come le abitudini alimentari e comportamentali, l'ambiente in cui si vive o il ruolo lavorativo) o costitutive/ereditabili (mutazioni presenti nella linea germinale), la maggior parte delle quali riparabili o non rilevanti. Tuttavia, se queste diventano molteplici, permanenti e se sono già presenti al momento della nascita, possono innescare più facilmente il processo di formazione e di sviluppo del tumore, nel quale i meccanismi dei geni adibiti al controllo e al funzionamento cellulare possono venire meno, portando ad una moltiplicazione delle cellule a dismisura (AIRC, 2023).

Fra i geni coinvolti in questo processo, ci sono:

- i geni oncogeni: geni adibiti all'attivazione della replicazione cellulare che, essendo sovraespressi nel processo di formazione del tumore, promuovono la moltiplicazione cellulare senza controllo;
- i geni oncosoppressori: geni che inibiscono la crescita cellulare, bloccandone la normale replicazione quando la cellula raggiunge il suo scopo. In molti tipi di tumore, questo meccanismo viene meno, promuovendo una replicazione cellulare fuori controllo;
- i geni adibiti all'apoptosi: geni coinvolti nella regolazione del meccanismo di "autodistruzione" che si innesca quando la cellula è danneggiata, per evitare danni maggiori all'organismo. Nei processi tumorali questi geni possono subire mutazioni, permettendo alla cellula alterata di continuare a riprodursi, ma in maniera anomala;

- i geni implicati nei meccanismi di riparazione del DNA: geni coinvolti nei meccanismi protettivi attraverso cui vengono individuate e corrette le mutazioni continue. Nei processi tumorali questi meccanismi vengono compromessi, portando le mutazioni ad accumularsi fino a far diventare la cellula cancerosa;
- i geni coinvolti nel metabolismo, nell'infiammazione e nel sistema immunitario: altri geni che possono determinare l'aggressività della malattia, per esempio interferendo con le risposte del sistema immunitario o modificando le proprietà di adesione delle cellule ai tessuti circostanti, favorendo così la formazione di metastasi.

Allo sviluppo del cancro, concorrono anche piccole molecole che agiscono sull'espressione dei geni senza modificare la sequenza del DNA. Fra queste vi sono piccoli frammenti di acidi nucleici, detti microRNA (miRNA) e modificazioni epigenetiche come la metilazione del DNA. Queste alterazioni possono limitare l'accesso ai geni, la loro trascrizione e la loro traduzione (AIRC, 2024).

4.1.1 Agonisti del cancro

Per formarsi, un tumore ha bisogno di ossigeno e sostanze nutritive che compongono il proprio microambiente, attraverso cui poter formare nuovi vasi sanguigni capaci di irrorare il nuovo tessuto in crescita. Un ruolo fondamentale è svolto anche dalle difese immunitarie, che vengono reclutate dalle cellule cancerogene per proteggere la massa tumorale in fase di sviluppo (AIRC, 2023).

4.1.2 Fattori di rischio del tumore

Alla crescita di un tumore concorrono molti fattori diversi. L'età più avanzata e la familiarità rappresentano i fattori di rischio invariabili, su cui non è possibile esercitare nessun tipo di modifica. Esiste anche fattori modificabili che permettono di ridurre la probabilità di insorgenza della malattia, come, ad esempio, alcuni comportamenti e determinate abitudini di vita quotidiana (AIRC, 2024). Il più importante e riconosciuto è il fumo di tabacco. Questo può contribuire allo sviluppo del cancro causando mutazioni genetiche in grado di innescare la formazione della neoplasia, favorendo l'esacerbazione della condizione morbosa una volta presente, oppure causando un'infiammazione cronica tendente alla soppressione delle risposte del sistema immunitario.

Per quanto i raggi del sole abbiano un effetto benefico su tutto l'organismo, in quanto favorenti la produzione di vitamina D, un'esposizione eccessiva a questi e anche ai raggi ultravioletti può danneggiare la pelle ed incrementare il rischio di sviluppare diversi tipi di tumore.

L'abuso di alcol, così come il suo consumo moderato, può anch'esso aumentare la probabilità di insorgenza del tumore, attraverso meccanismi diversi. In particolare, l'alcol può danneggiare

direttamente alcuni tessuti o organi, può indurre un aumento della produzione di ormoni, può interagire con altri composti dannosi potenziandone gli effetti nocivi, può ridurre la capacità protettiva di alcuni nutrienti e può, inoltre, favorire lo sviluppo di una neoplasia attraverso la sua trasformazione in acetaldeide, il metabolita dell'alcol dall'effetto cancerogeno (AIRC, 2024).

Oltre a ciò che si beve, è importante prestare attenzione anche ad uno stile di vita sedentario, a ciò che si mangia e in che quantità, poiché le abitudini alimentari non salutari possono favorire la comparsa della malattia, sia consumando alimenti contenenti sostanze potenzialmente cancerogene, come per esempio quelle contenute nella carne rossa, soprattutto se lavorata o cotta ad alte temperature, sia ricorrendo ad un'alimentazione povera di cibi con fattori protettivi, come le fibre, le vitamine e i sali minerali presenti soprattutto nella frutta e nella verdura.

Allo sviluppo di un cancro può contribuire anche l'azione di ormoni come l'insulina (e i relativi fattori di crescita insulino-correlati), che viene prodotta in quantità superiori alla norma in risposta ad eccessi alimentari.

A favorire la comparsa della malattia, ci sono anche elementi nell'ambiente che ci circonda, alcuni dei quali sono presenti in natura, come certi minerali o agenti infettivi (HBV, HCV, Papillomavirus umano, virus di Epstein Barr, HIV, Herpesvirus 8, Helycobacter pylori…), mentre altri sono prodotti a cui possono essere maggiormente esposte alcune categorie di lavoro (benzene, diossine, pesticidi, idrocarburi aromatici policiclici, amianto…), delle quali è stato proibito l'uso o sono state stabilite norme per proteggere chiunque sia costretto a venirci in contatto. Altri ancora sono i raggi X in ambito medico e gli agenti fisici come le radiazioni ionizzanti che provengono dai raggi cosmici e penetrano l'atmosfera. Queste, tuttavia, rendono conto solo di una piccola quota del rischio di mutazioni del DNA che possono provocare il cancro. Un notevole incremento del rischio si osserva invece nelle persone esposte a dosi elevate, per esempio, in seguito ad esplosioni nucleari (AIRC, 2024).

4.2 Trattamento del tumore

Ogni tumore richiede un approccio diverso e, spesso, anche tempi di cura diversi. Il trattamento antitumorale prevede terapie più ravvicinate nei primi mesi dopo la diagnosi, seguite da controlli periodici nei mesi successivi, per rilevare un'eventuale comparsa di metastasi/tumori secondari o recidive. (AIRC, 2018). Le metastasi sono presentazioni della malattia in un punto del corpo diverso da quello in cui il cancro si è presentato la prima volta, a causa di alcune cellule cancerose che si diffondono nell'organismo. Le recidive sono manifestazioni della malattia nello stesso punto in cui è comparsa la prima volta, per la permanenza in forma quiescente di alcune cellule tumorali che hanno resistito alla chirurgia, ai trattamenti radioterapici e/o chemioterapici.

Generalmente, un paziente viene considerato guarito, quando non manifesta segni o sintomi della malattia dopo cinque anni dal termine delle cure (AIRC, 2018).

4.2.1 Tipi di terapie antitumorali

Oggi le terapie antitumorali somministrabili sono molteplici. La sorveglianza attiva, che viene riservata alle forme tumorali a lentissimo accrescimento, prevede la stretta osservazione della malattia con esami ripetuti, intervenendo solo se ne viene rilevata un'improvvisa accelerazione (AIRC, 2018). La chirurgia, che è l'opzione principale nella maggior parte dei tumori solidi, consiste in operazioni mirate alla rimozione del tessuto tumorale maligno o alla riduzione della sua massa. Questo tipo di trattamento può essere anticipato dalla chemioterapia o dalla radioterapia pre-operatoria. La chemioterapia consiste nella somministrazione di farmaci antineoplastici in grado di agire sulle cellule tumorali, inducendone la morte durante la fase di replicazione. A seconda del tipo del tumore e dello stadio, la chemioterapia può curarlo o rallentarne la crescita, distruggendo le cellule mutate, comprese quelle che si sono diffuse in altre parti del corpo.

Questi farmaci chemioterapici bloccano, tuttavia, la divisione delle cellule in rapida replicazione, senza distinguere tra quelle sane e quelle mutate, provocando effetti avversi su tutti i tessuti a rapido ricambio come le mucose, i capelli, le unghie e il sangue.

La radioterapia pre-operatoria si concentra, invece, il più possibile nell'area colpita per evitare di danneggiare le cellule sane, riducendo la dimensione del tumore solido attraverso i raggi X. Se il cancro risulta particolarmente sensibile all'effetto delle radiazioni, può essere utilizzata anche come unica terapia.

Negli ultimi anni, in particolari circostanze, si è diffuso l'utilizzo della radioterapia intraoperatoria. Durante l'intervento, una maggiore dose di radiazioni viene concentrata nella zona in cui il tumore si è sviluppato, riducendo il rischio di recidive. Per alcuni tipi di tumore, è possibile utilizzare anche la brachiterapia/radioterapia interna, che consiste nella collocazione di una sorgente permanente di radiazioni all'interno o vicino alla zona da trattare; può essere utilizzata da sola o in combinazione con altri tipi di trattamento (AIRC, 2018).

La terapia ormonale, che altera l'equilibrio di determinati ormoni nell'organismo, viene utilizzata soprattutto per controllare i tumori ormone-sensibili.

Vengono utilizzati anche i farmaci biologici, che sono sostanze in grado di "riconoscere" la cellula tumorale e promuoverne la distruzione da parte del sistema immunitario; possono essere anticorpi in grado di indirizzare un farmaco all'interno della cellula malata provocandone la distruzione, oppure

inibitori delle chinasi in grado di interferire con i messaggeri chimici per controllare la crescita e la riproduzione cellulare.

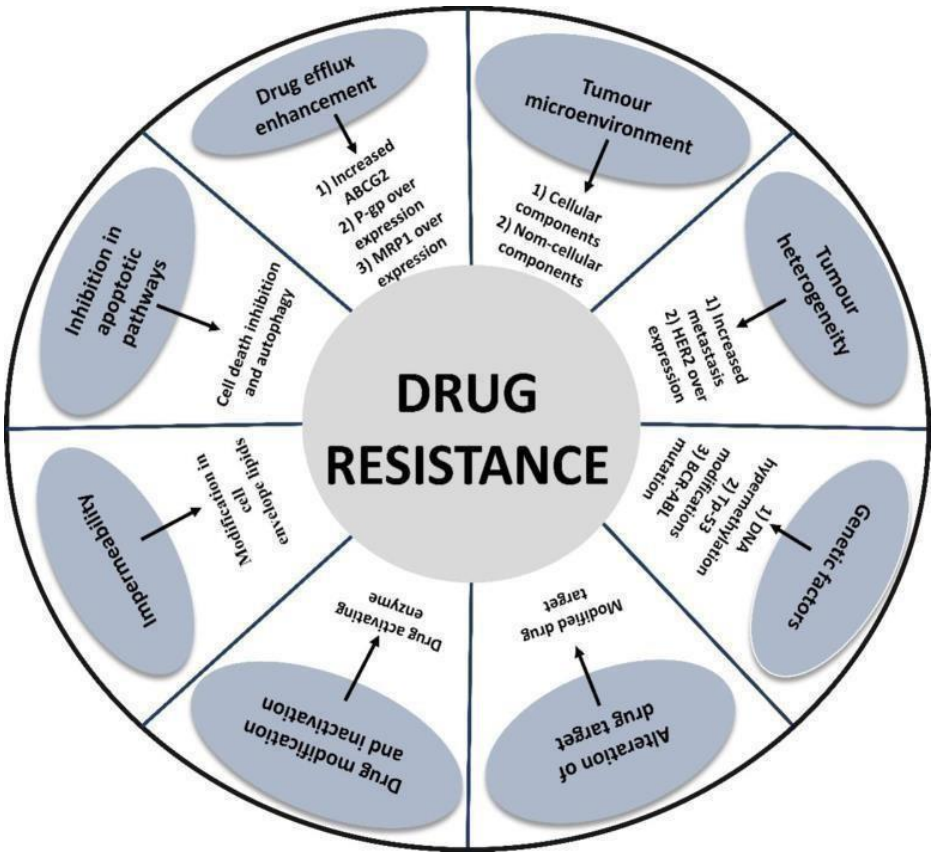
Infine, può essere utilizzata l'immunoterapia, che consiste nella somministrazione di farmaci capaci di stimolare il sistema immunitario contro le cellule tumorali (AIRC, 2018).

4.2.2 Limiti delle terapie esistenti

Nonostante la variabilità degli interventi terapeutici ad oggi disponibili, alcuni tipi di cancro presentano ancora una prognosi infausta (Aroosa et al., 2023), a volte a causa di alcune caratteristiche dei farmaci utilizzati, come ad esempio la stabilità chimica e gli effetti collaterali.

Alcuni, come i farmaci antineoplastici nella chemioterapia, vengono somministrati per via endovenosa, quindi, colpendo l'intero corpo, possono portare ad effetti avversi anche importanti, che ne determinano la limitazione dell'uso. Tuttavia, l'ostacolo principale al trattamento dei pazienti oncologici è dato dalla resistenza ai farmaci (Aroosa et al., 2023).

I fattori responsabili, illustrati nella figura 13, riportata da "*The evidence for repurposing anti-epileptic drugs to target cancer*, di Aroosa et al., 2023", sono diversi ed agiscono attraverso differenti percorsi meccanicistici, fra cui modifica e inattivazione dei farmaci, alterazione dei bersagli dei farmaci, fattori genetici ed epigenetici che subiscono numerose modificazioni nel corso della carcinogenesi superando il meccanismo di controllo e di riparazione del DNA, eterogeneità del tumore (intratumorale: aspetti fenotipici e morfologici tra pazienti con istologia identica; oppure intratumorale: variabilità di aspetti fenotipici e morfologici all'interno di un unico tumore), la sua dimensione, il microambiente tumorale, le pompe di efflusso dei farmaci e l'inibizione delle vie apoptotiche.



(Fig. 13: panoramica dei diversi fattori responsabili della resistenza ai farmaci nel cancro)

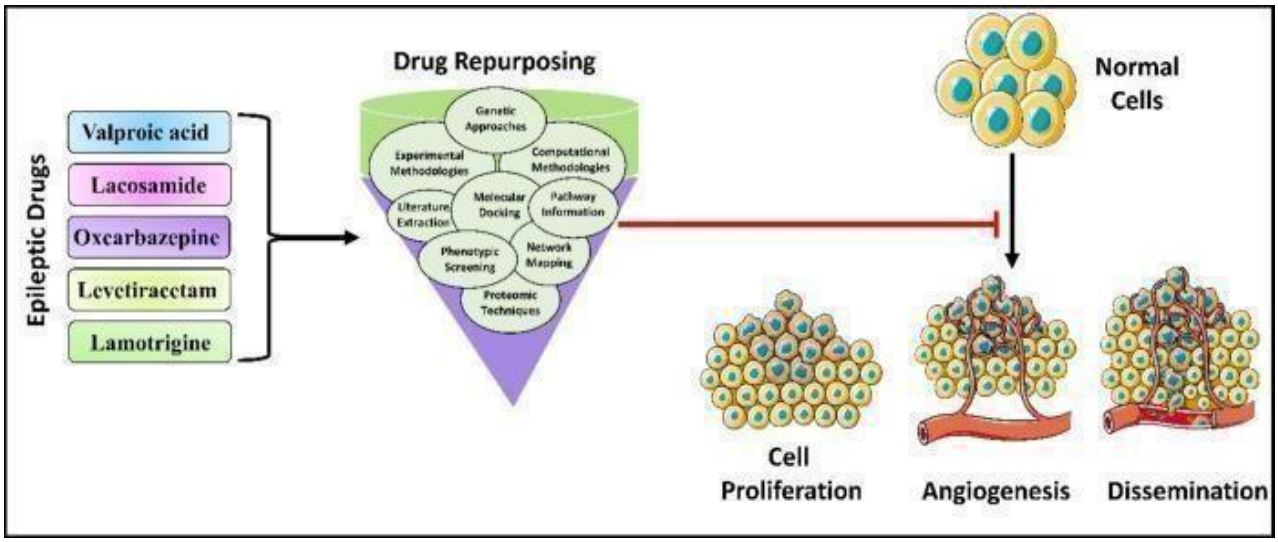
4.2.3 Riposizionamento dei farmaci: una possibile soluzione

La crescente comprensione della biologia delle malattie neoplastiche umane e i progressi nella genomica e nella proteomica possono aiutare a risolvere la resistenza ai farmaci antineoplastici, individuando nuovi bersagli farmacologici sulla base dei quali applicare più facilmente le strategie di riposizionamento farmacologico atte al rilevamento di effetti antitumorali in farmaci già utilizzati in ambito clinico (Aroosa et al., 2023).

Grazie a questo tipo di studi clinici, recentemente sono state attribuite proprietà antitumorali ai classici farmaci antipsicotici, antidepressivi e stabilizzanti dell'umore. È stato osservato che alcuni di questi composti possono inibire la progressione del glioma prendendo di mira le vie di segnalazione correlate alla proliferazione cellulare, all'apoptosi o all'invasione/migrazione, oppure aumentando la sensibilità delle cellule tumorali alla chemioterapia convenzionale o alla radioterapia. Risultati simili sono stati dimostrati per i farmaci antiepilettici utilizzati nel trattamento delle crisi in pazienti con glioma, in particolare con glioblastoma (Natale et al., 2023).

Come illustra la figura 16, riportata da "*The evidence for repurposing anti-epileptic drugs to target cancer,* di Aroosa et al., 2023", il riposizionamento dei farmaci antiepilettici si basa sulla loro capacità di interagire direttamente con le vie di segnalazione adibite alla proliferazione e all'inibizione

cellulare, attraverso cui questi composti possono modificare le alterazioni epigenetiche diffuse nelle neoplasie.



(Fig. 16: meccanismi alla base del riposizionamento dei farmaci antiepilettici)

Tali alterazioni sono caratterizzate da una diminuzione complessiva del pattern di metilazione del DNA, il cui grado di ipometilazione aumenta all'aumentare dell'invasività del cancro, associata ad una ipermetilazione regionale di particolari isole (Blaheta et al., 2005). Queste modificazioni alterano la trasmissione degli stati di cromatina e dei profili di espressione genica, compromettendo i meccanismi genetici adibiti alla regolazione della crescita cellulare e quindi, dando origine al processo di sviluppo di una cellula cancerosa che si moltiplica a dismisura (Aroosa et al., 2023).

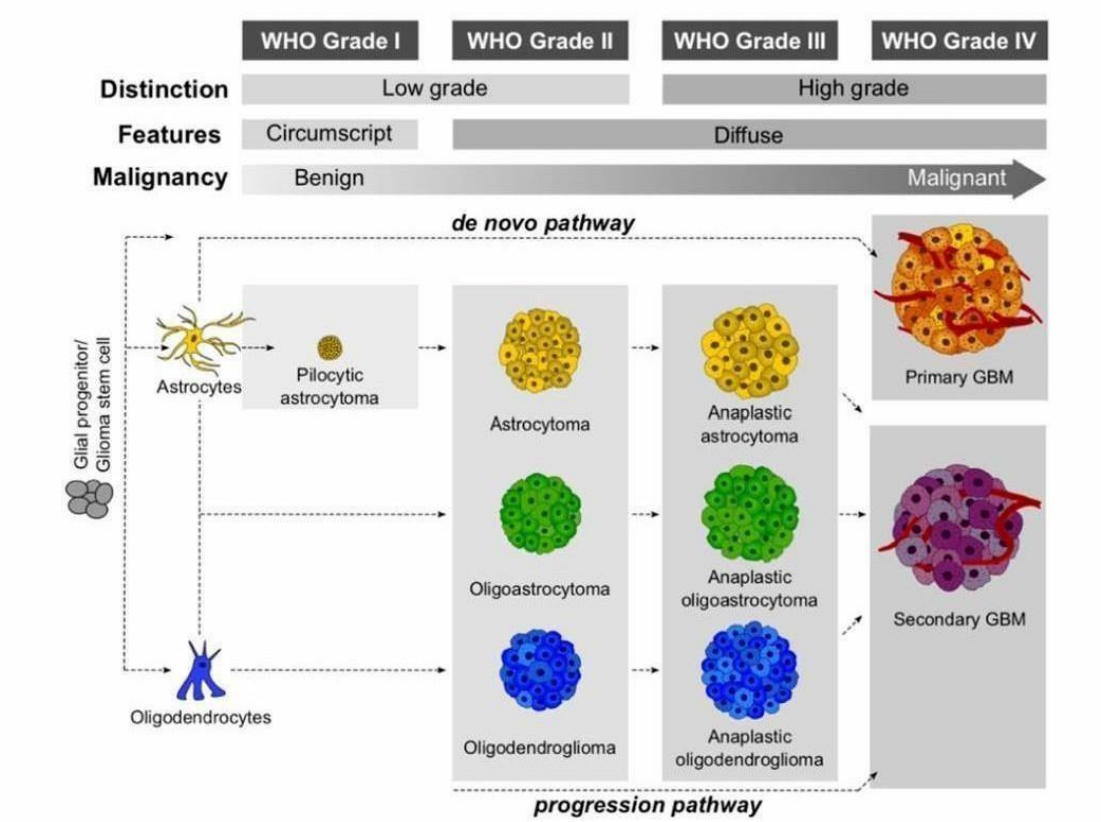
4.3 Gliomi

I gliomi sono i più frequenti tumori primitivi del SNC. Formano un gruppo eterogeneo di neoplasie per caratteristiche istologiche e grado di malignità. Si ritiene che queste neoplasie derivino da una cellula progenitrice gliale che si differenzia seguendo una delle linee cellulari in maniera preferenziale (Perry e Wesseling, 2016).

I gliomi comprendono tre tipi di neoplasie: gli oligodendrogliomi, che originano dagli oligodendrociti, gli ependimomi, che originano dalle cellule ependimali e gli astrocitomi, che originano dagli astrociti, a loro volta divisi in astrocitomi diffusamente infiltranti e astrocitomi maggiormente localizzati.

Per decenni, la classificazione dei tumori del sistema nervoso centrale si è basata esclusivamente sulle caratteristiche istologiche della lesione. Oggigiorno, l'anatomia patologica si avvale anche della biologia molecolare che, nell'ultima decade, ha assunto un ruolo sempre più centrale nella classificazione delle neoplasie cerebrali. Così, nel 2016, l'Organizzazione Mondiale della Sanità

(WHO) ha pubblicato la quarta edizione della classificazione dei tumori del SNC, in cui compare per la prima volta una classificazione di tipo integrato (genotipo e fenotipo), vantando di una maggiore determinazione della risposta al trattamento e alla prognosi (Luis et al., 2016). Questa classificazione comprende sia la tipizzazione tumorale, che consiste nel differenziare una lesione astrocitaria, oligodendrogliale o ependimale, sia il grading del tumore che, caratterizzato dall'assegnazione di un grado specifico tra I e IV, rispecchia il grado di malignità della neoplasia e il suo decorso clinico (Tilak et al., 2021).



(Fig. 17: quattro gradi del glioma e le loro cellule di origine secondo la classificazione WHO 2016)

Come illustra la figura 17, riportata da "*Receptor Tyrosine Kinase Signaling and Targeting in Glioblastoma Multiforme*, di Tilak et al., 2021", il tumore di grado I (WHO I) ha una crescita lenta e delimitata, istologicamente ben differenziato e non infiltrante. Esso è associato ad una prognosi favorevole, essendo suscettibile di rimozione chirurgica o comunque associato ad una lunga sopravvivenza.

Il grado II (WHO II) presenta sempre una lenta crescita ed una buona differenziazione, ma spesso ha una maggiore invasività rispetto al grado I, tale da determinare un'alta probabilità di recidiva e da precludere, talvolta, la realizzazione di una completa resezione chirurgica (Tilak et al., 2021).

Il grado III (WHO III) definisce tumori a rapida crescita con caratteristiche istologiche tipiche (Weller et al., 2015).

Ilgrado IV (WHO IV) è riservato al glioblastoma multiforme, che ha tutte le caratteristiche del grado III più tre importanti aspetti che lo definiscono: la presenza di proliferazione patologica microvascolare, aree di necrosi e disposizione delle cellule tumorali a pseudo-palizzata.

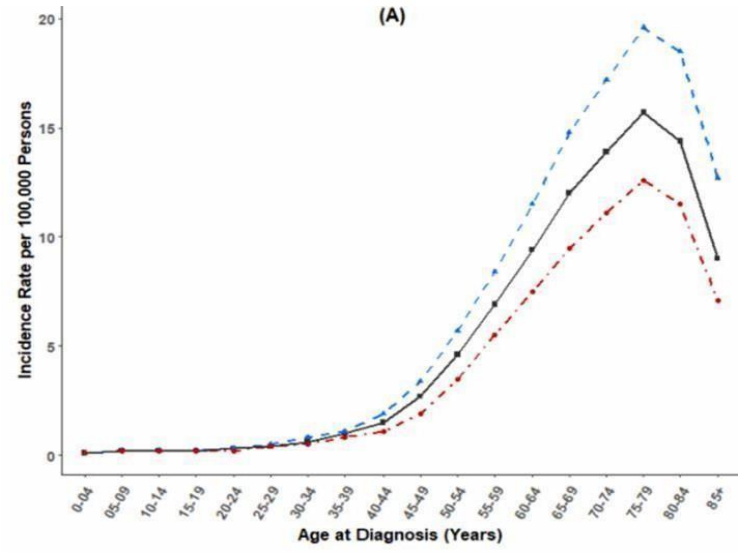
Il glioblastoma, inoltre, viene distinto in glioblastoma primario, nel caso in cui origini direttamente dalla cellula astrocitaria, o glioblastoma secondario, nel caso in cui derivi da gliomi di basso grado che si trasformano in forme più aggressive di grado maggiore.

4.4 Glioblastoma multiforme

Il glioblastoma multiforme è il tumore intrassiale primitivo più comune e aggressivo dell'adulto, con un'incidenza di malattia che cresce progressivamente con agli anni: rappresenta il 46,1% di tutti i tumori maligni dell'encefalo e del sistema nervoso centrale, il 45,6% dei tumori primitivi maligni dell'encefalo e il 14,7% di tutti i tumori dell'encefalo e del sistema nervoso centrale (benigni e maligni).

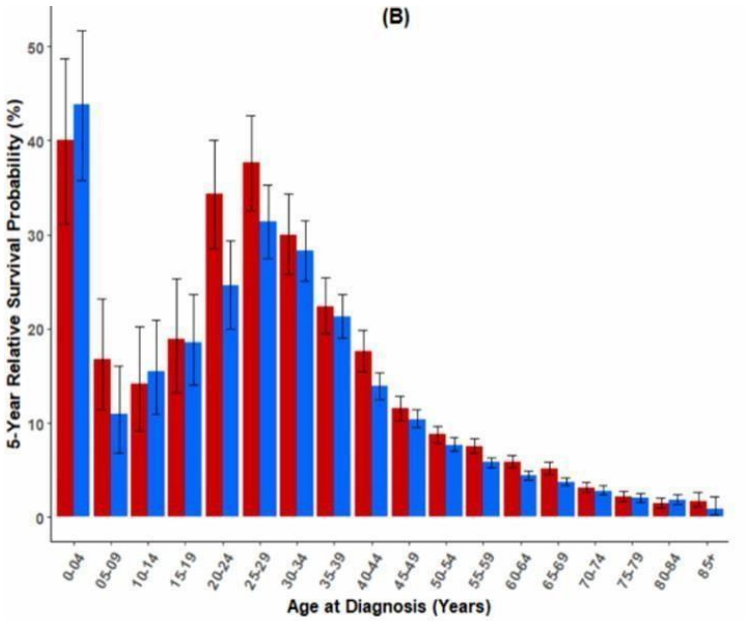
4.4.1 Fattori di rischio immutabili

Il glioblastoma presenta un'età mediana di insorgenza di 64 anni con una leggera prevalenza nel sesso maschile rispetto al sesso femminile, con un rapporto di 1,58:1 (Thakkar et al., 2014). Infatti, come si evince dalla figura 18, riportata da "*Glioblastoma in Adults: A Society for Neuro-Oncology (SNO) and European Society of Neuro-Oncology (EANO) Consensus Review on Current Management and Future Directions*, di Wen et al, 2020", l'incidenza aggiustata per età cresce progressivamente da un minimo di 0,15 ogni 100.000 abitanti in età pediatrica, ad un picco di 15,03 ogni 100.000 pazienti tra i 75 e i 84 anni d'età (Ostrom et. al., 2015).



(Fig. 18: incidenza di malattia aggiustata per età)

Inoltre, all'aumentare dell'età diminuisce la sopravvivenza alla malattia, come dimostrato nella figura 19, riportata da "*Glioblastoma in Adults: A Society for Neuro-Oncology (SNO) and European Society of Neuro-Oncology (EANO) Consensus Review on Current Management and Future Directions*, di Wen et al, 2020". Il 5% dei pazienti sotto i 65 anni sopravvive a 5 anni dalla diagnosi contro il 2% degli over 65 (Ostrom et. al., 2015).



(Fig. 19: sopravvivenza della malattia aggiustata per età)

La maggior parte dei tumori cerebrali è sporadica, ma esiste un 5-10% dei casi che presenta una certa familiarità. Infatti, il rischio di sviluppare un glioma aumenta di circa 2 volte in un soggetto con parente di primo grado con diagnosi di glioblastoma (Shete et al., 2011).

4.4.2 Fattori di rischio di tipo epidemiologico

Nell'ambito della ricerca sui tumori sono stati esaminati fattori di rischio modificabili associabili all'insorgenza del tumore cerebrale (Ostrom et al., 2014). Allo sviluppo del glioblastoma e dei gliomi in genere sono state attribuite le radiazioni, sia quelle ionizzanti ad alte dosi, sia quelle non ionizzanti come i campi magnetici a bassa frequenza.

Per anni sono state studiate possibili associazioni dei tumori cerebrali anche con determinati ruoli professionali, in relazione alla loro esposizione alle apparecchiature elettriche o elettroniche e/o a specifiche sostanze, come antiparassitari e solventi.

Alcune potenziali categorie a rischio sono gli agricoltori, per la loro esposizione ai pesticidi, i benzinai e gli idraulici, per la loro esposizione al piombo, gli elettricisti e gli operai edili per la loro esposizione ai policlorobifenili, i lavoratori della produzione della gomma, per la loro esposizione ai composti N – nitroso, i macellai e i tagliatori dicarne, per il loro contatto con la carne cruda (Ostrom et al., 2014).

Nel 2001, uno studio caso-controllo su un campione di donne, ha osservato un aumento significativo del rischio di glioma associato all'impiego nell'agricoltura e nell'industria tessile, nei grandi magazzini e in altre industrie di vendita al dettaglio.

Al contrario, in uno studio che includeva cinque paesi nordici, è stata riportata una diminuzione del rischio di insorgenza del tumore tra i lavoratori forestali, i pescatori e i marinai (Ostrom et al., 2014). Nessun dato clinico ha, tuttavia, evidenziato una particolare associazione con il fumo, né con altri agenti cancerogeni (Barnholtz-Sloan et al., 2011).

In letteratura, oltre ai fattori di rischio, sono stati riportati anche ruoli protettivi a carico sia delle immunoglobuline (IgE), che espongono i soggetti con disordini atopici e/o con allergie ad un rischio minore d'insorgenza del glioma, sia degli ormoni steroidei ovarici, in particolare gli estrogeni. Questa ipotesi è avvalorata dal fatto che i gliomi sono più frequenti nell'uomo, specialmente durante il periodo riproduttivo. Inoltre, donne in post-menopausa che fanno terapia ormonale sostitutiva (HRT), mostrano tassi di incidenza inferiori rispetto a coloro che non hanno mai fatto questo tipo di terapia (Qi et al., 2013).

4.4.3 Strumenti di diagnosi

L'esame essenziale per fare diagnosi strumentale di glioblastoma è la risonanza magnetica nucleare con contrasto (RMI) che viene utilizzata anche nella gestione clinica dei pazienti con neoplasie cerebrali. Questo strumento didiagnosi può essere seguito poida altri esami d'approfondimento come

la risonanza magnetica funzionale (fMRI), la tomografia a emissione di positroni (PET) e la trattografia (DTI).

Questo iter diagnostico, generalmente, origina da una tomografia computerizzata (TC) con mezzo di contrasto atta all'esclusione prioritaria della presenza di patologie che potrebbero richiedere un trattamento urgente, come l'emorragia o eventi ischemici (AIOM, 2021).

4.4.4 Presentazione clinica

La storia clinica varia da soggetto a soggetto. I pazienti con glioblastoma primitivo manifestano sintomi dai 3 ai 5 mesi prima della diagnosi. Il glioblastoma secondario invece, può manifestarsi con una sintomatologia lieve all'inizio e arrivare alla diagnosi dopo alcuni anni (Wirshing et al.).

Le manifestazioni cliniche del glioblastoma sono legate agli aspetti funzionali delle aree coinvolte e alla dinamica di diffusione tumorale. I segni e i sintomi dipendono da tre situazioni determinate dalla presenza del tumore: la distruzione tissutale diretta, l'ipertensione endocrina, come conseguenza della crescita della massa tumorale e dell'edema circostante, e l'effetto irritativo del glioblastoma con le crisi epilettiche.

La distruzione tissutale diretta determina sintomi che variano al variare dell'area cerebrale coinvolta. Nei pazienti con glioblastoma frontale, temporale e del corpo calloso sono comunemente osservati cambiamenti della personalità, alterazioni dell'umore e della memoria. Talvolta, questo quadro clinico entra in diagnosi differenziale con disturbi di natura psicogena o con demenza senile, tali da determinare un ritardo della diagnosi nei pazienti sopra i 60 anni. I tumori del lobo parietale determinano principalmente disorientamento spaziale, mentre le neoplasie del lobo occipitale danno alterazioni del campo visivo. I rari glioblastomi infratentoriali possono determinare paralisi variabili di nervi cranici, quadri piramidali e alterazioni cerebellari.

Nel 20% di tutti i pazienti, indipendentemente dall'area cerebrale coinvolta nella neoplasia, i sintomi d'esordio sono deficit sensitivi e motori, mentre il 5% presenta un'afasia iniziale dovuta alla localizzazione tumorale nell'emisfero sinistro (Yuile et al., 2006).

L'aumento della pressione endocrina si manifesta con cefalee tipicamente notturne o del risveglio, principalmente unilaterali, nausea, vomito, stanchezza, vertigini e rallentamento neuro cognitivo. La cefalea come sintomo d'esordio è presente in meno di un terzo dei pazienti con glioblastoma, mentre gli altri sintomi esposti sono più comuni durante la progressione della malattia. (Yuile et al., 2006).

Le crisi epilettiche sono un sintomo frequente nei tumori cerebrali, la cui presenza dipende dalla mutazione genetica, dalla posizione del tumore, dal tipo e dalgrado della neoplasia (Ryu et al., 2019).

Possono presentarsi come crisi parziali semplici, parziali complesse o generalizzate. In una percentuale variabile tra il 24 e 68% dei pazienti si manifestano nella fase iniziale della malattia, mentre tra il 19 e 38% compaiono durante il decorso del tumore (Kerkhof et al., 2013).

4.4.5 Trattamenti convenzionali

Il trattamento del glioblastoma di nuova diagnosi richiede un approccio multidisciplinare per prolungare la sopravvivenza del paziente e migliorarne i risultati complessivi (Nicholson et al., 2021).

Il gold standard del trattamento è la massima resezione chirurgica seguita dal trattamento di mantenimento radioterapico post-operatorio associato alla concomitante chemioterapia adiuvante con temozolomide (TMZ)

Il paziente, una volta conclusa l'indagine radiografica, viene valutato per l'eleggibilità all'intervento chirurgico. Uno dei più importanti fattori è la Karnofsky Performance Scale (KPS), il cui valore deve essere uguale a 70 per proporre l'intervento (Chambless et al., 2015). Gli obiettivi della chirurgia sono diversi, come ottenere un campione di tessuto adeguato a poter eseguire la diagnosi di certezza della neoplasia, ridurre la massa tumorale e la sintomatologia associata come l'aumento della pressione endocranica, migliorare la risposta alla radioterapia e alla chemioterapia e aumentare la sopravvivenza dei pazienti (Lapointe et al., 2018).

La biopsia stereotassica cerebrale rappresenta l'approccio chirurgico meno invasivo possibile ed è riservato a tutti quei pazienti non eleggibili alla chirurgia maggiore o per la localizzazione della neoplasia o per un performance-status incompatibile.

Ci sono diverse modalità con cui questa operazione può essere eseguita (Young et al., 2015). Il raggiungimento della lesione è guidato innanzitutto dalle immagini di risonanza magnetica, poi dal posizionamento del casco stereotassico che consente di avere riferimenti geometrici precisi direttamente sul campo operatorio, rispetto alle sezioni di risonanza magnetica. La neoplasia può essere raggiunta attraverso un ago bioptico inserito dopo l'esecuzione di una minima craniectomia nel punto più vicino alla superficie superiore della massa. La sensitività e la specificità di questa tecnica è molto alta, tra il 90,7% e il 100% (Seliem et al., 2003).

In alternativa, il tumore può essere raggiunto attraverso la neuronavigazione frameless. Questa tecnica si avvale dell'utilizzo delle immagini di risonanza magnetica del cranio, ottenute nei vari piani dello spazio e registrate poi nel software operatorio. Il chirurgo, grazie ad esse, riesce ad avere una guida per l'approccio ed il percorso dell'ago bioptico. L'accuratezza di questa procedura varia tra il 62 e 95% (Watts et al., 2014).

L'approccio craniotomico standard è il più comune tra le possibilità chirurgiche di rimozione del glioblastoma, in cui il paziente viene messo in posizione supina con il capo in posizione neutra e sottoposto ad anestesia generale.

Il tumore può affiorare sulla superficie corticale e quindi essere subito rimosso, oppure può essere più profondo tale da richiedere l'uso del neuronavigatore per una successiva asportazione microchirurgica (Young et al., 2015).

L'intervento di Awake Craniotomy viene effettuato quando il glioblastoma è localizzato in prossimità di aree eloquenti, come il giro precentrale dell'area motoria, le aree del linguaggio di Broca o di Wernicke, oppure il tronco cerebrale. Durante una prima fase dell'intervento, il paziente viene sedato per procedere alla craniotomia. Viene dopo svegliato e viene mappato l'encefalo intorno alla neoplasia per localizzare le aree eloquenti che non devono essere asportate chirurgicamente (Young et al., 2015). Una volta completato il processo di mappatura, il paziente viene di nuovo sedato per procedere alla rimozione del glioblastoma.

Questo tipo di intervento presenta tra le principali controindicazioni, la claustrofobia del paziente, presenza di disturbi psichiatrici e disturbi neurocognitivi, come la demenza (Seliem et al., 2003).

La chirurgia a fluorescenza si basa sull'impiego di agenti fluorescenti, somministrati prima della chirurgia, che si accumulano a livello delle cellule tumorali, rendendole visibili e distinguibili da quelle nervose sane durante la chirurgia. Il razionale di questa tecnica è massimizzare la preservazione del tessuto sano in rapporto al tumore (Schipmann et al., 2019).

Oltre al neuronavigatore, ci sono altri due strumenti utilizzabili in fase operatoria per identificare residui tumorali e possibili complicanze intraoperatorie, come l'ematoma, e per distinguere i margini della lesione dell'encefalo sano: la risonanza magnetica intraoperatoria (Liang et al. 2012) e l'ecografia intraoperatoria (Orringer et al., 2012).

Il trattamento post–chirurgico di mantenimento, che deve cominciare entro 6-7 settimane dalla chirurgia, prevede la radioterapia (RT) associata a cicli di TMZ per sei settimane e successivo mantenimento con TMZ con uno schema di sei cicli da 28 giorni, la cui efficacia dipende dallo stato di metilazione del promotore MGMT: tanto più è ipometilato, tanto più gli effetti benefici sono minimi e la TMZ non viene nemmeno somministrata (Hegi et al., 2015).

4.4.6 Terapie di supporto

I pazienti con glioblastoma, ma in generale con tumore cerebrale, presentano un rischio assoluto superiore al 20% di sviluppare episodi tromboembolici (Jenkins et al., 2010). La loro probabilità di insorgenza non dipende

solo dalle caratteristiche del tumore, ma anche da altri fattori, come l'età, la mobilitazione del paziente, la familiarità, la chirurgia recente, l'obesità, l'uso di steroidi e il trattamento antitumorale stesso. Pertanto, tutti i pazienti con neoplasia cerebrale dovrebbero essere valutati per il rischio tromboembolico ed eventualmente ricevere una profilassi anti-trombotica, anche preventivamente nel periodo post-operatorio, fino alla mobilizzazione del paziente.

Molti pazienti possono sviluppare anche un edema cerebrale con sintomatologia associata da ipertensione endocranica, tale per cui viene somministrato un trattamento con glucocorticoidi (Salvador et al., 2014). La terapia steroidea non ha delle linee guida specifiche e cambia a seconda delle caratteristiche del paziente (Ryken et al., 2010). È comunemente utilizzata anche a scopo preventivo prima dell'intervento chirurgico e durante il trattamento radioterapico. È necessario, tuttavia, prestare attenzione ai possibili effetti secondari di questa terapia, come l'osteoporosi, l'ipertensione, il diabete, la miopatia, l'immunosoppressione e i disturbi psichiatrici (Roth, 2015).

Nella maggior parte dei pazienti con glioblastoma, già al momento della diagnosi della malattia, o durante il suo decorso, possono manifestarsi anche crisi epilettiche che compromettono ulteriormente la qualità di vita del paziente (Samudra et al., 2019). La prevenzione e la cura di queste crisi sono, quindi, importanti quasi quanto il trattamento del glioblastoma.

Avvengono attraverso la somministrazione di una terapia antiepilettica che può comprendere carbamazepina (CBZ), levetiracetam (LEV), talampanel, perampanel e VPA (Yagi et al., 2022). La scelta del farmaco è determinata dall'età del paziente, con particolare attenzione agli anziani e alle donne in gravidanza, dalle comorbidità, dai farmaci concomitanti, dalla tollerabilità, dal profilo degli effetti avversi e dalle interazioni farmacologiche (Happold, et al., 2016).

Questa terapia dovrebbe iniziare sia nei pazienti con tumori cerebrali che presentano una prima crisi isolata, per l'alto rischio di recidiva, sia come prevenzione nel periodo pre-operatorio, fino ad una settimana dopo l'intervento, nei pazienti con neoplasie cerebrali sottoposti a craniotomia (Sànchez – Villalobos et al., 2022).

Circa la durata del trattamento antiepilettico nella neoplasia cerebrale, non esiste attualmente una raccomandazione o un consenso basato sull'evidenza (Chen et al., 2018). Tra i fattori che possono essere presi in considerazione per sospendere questo tipo di intervento viene suggerito un controllo ottimale delle crisi, la resezione completa (o meno) del tumore, i risultati negativi dell'elettroencefalogramma, particolari esigenze sociali o lavorative ed una decisione condivisa dal paziente ed il suo caregiver con il medico. Tale scelta si basa su una valutazione che confronta il rischio di recidiva delle crisi con ipotenziali effetti positivi del ritiro dei farmaci antiepilettici. Infatti,

nel 20/40% dei pazienti, questi farmaci possono manifestare effetti avversi, come sonnolenza, vertigini, affaticamento, disturbi cognitivi, cambiamenti dell'umore o del comportamento, che incrementano l'impatto negativo delle crisi sulla qualità di vita (Samudra et al., 2019). Sia i neuro-oncologi che i pazienti sono cauti nel sospendere la terapia antiepilettica, nonostante un periodo di assenza delle crisi, a causa della paura di nuove crisi epilettiche e delle loro potenziali conseguenze, anche di tipo psicosociale (Sànchez – Villalobos et al., 2022).

4.4.7 Recidive

Entro un anno dalla diagnosi, nonostante la massima rimozione chirurgica, nel 70% dei pazienti con glioblastoma si verifica la progressione della malattia. In media la ricorrenza del tumore si ha dopo circa 7 mesi e ad oggi non c'è una chiara terapia standard per il trattamento della recidiva (Stupp et al., 2005). Le linee guida dell'Associazione Italiana Oncologica Medica (AIOM) del 2021 riportano una raccomandazione forte nei confronti del re-intervento chirurgico come prima scelta in caso di recidiva. Considerati i benefici in termini di sopravvivenza, la scarsità di opzioni terapeutiche e i potenziali rischi, si stima un rapporto rischio/beneficio favorevole per pazienti che hanno fatto una prima resezione radicale del glioblastoma, se l'età è inferiore ai 70 anni, se il valore KPS > 70 e se l'intervallo temporale tra i due interventi è di almeno 6 mesi. (Suchorska et al., 2016).

Altre opzioni terapeutiche possono essere un rechallange con TMZ, l'utilizzo di bevacizumab o del regorafenib e la somministrazione di campi elettrici alternati (TTF).

Il rechallenge con TMZ può essere preso in considerazione soprattutto nei pazienti con il promotore di MGMT (gene di riparazione) metilato, che recidivano dopo diversi mesi dalla fine della terapia di mantenimento (Weller et al., 2015).

Il bevacizumab è un anticorpo monoclonale che lega VEGF, contrastando la formazione di nuovi vasi sanguigni nella massa tumorale (Annunziato, 2018). È spesso efficace nel ridurre l'edema peritumorale e i segni clinici associati, nel migliorare la sopravvivenza libera da malattia (PFS) e nella possibilità di ridurre il cortisone (Wick et al., 2017).

Il regorafenib, un inibitore delle tirosin-chinasi che blocca il recettore VEGF a livello del dominio intracellulare, nelle recidive di glioblastoma ha dimostrato di aumentare la sopravvivenza ed il tempo libero da progressione di malattia in maniera statisticamente significativa. Nelle ultime linee guida la forza di raccomandazione dell'utilizzo di questo composto come prima scelta in pazienti con recidiva e buon performance status, è di tipo moderato (AIOM, 2021).

Il trattamento con campi elettrici alternati si basa sulla generazione di campi a bassa intensità e frequenza intermedia che inducono la morte delle cellule neoplastiche. La trasmissione di questi

campi elettrici dal dispositivo generatore si ha attraverso l'utilizzo di trasduttori applicati direttamente sul cuoio capelluto. Ha una metodica versatile che si esprime con la non invasività e l'assenza di effetti collaterali sistemici (Wen et al., 2020). Inoltre, durante la terapia adiuvante con TMZ sembra apportare un aumento della sopravvivenza media (Stupp et al, 2017).

Nell'armamentario terapeutico, rientra anche l'utilizzo di terapie palliative nei casi di performance status scaduti (Stupp et al., 2012).

4.4.8 Follow-up per la valutazione della risposta al trattamento

Secondo le ultime linee guida AIOM 2021 il programma di follow–up prevede che i pazienti si sottopongano a esami bio-umorali e, ogni 2/3 mesi, a controlli con visita clinica e risonanza magnetica cerebrale (AIOM, 2021).

In neuro-oncologia il criterio più oggettivo per la valutazione dell'efficacia dei trattamenti è il tempo libero da progressione di malattia, valutato secondo i parametri di MacDonald. Si parla di remissione completa della malattia (RC) quando, ad almeno quattro settimane di distanza, si osserva una scomparsa del tumore dalle scansioni della risonanza magnetica o della tomografia computerizzata, in assenza di terapia steroidea, e una clinica neurologica stabile o migliorata.

La remissione è parziale (RP) quando esami strumentali restituiscono una riduzione del 50% della massa tumorale in presenza totale o ridotta di terapia steroidea e una clinica neurologica stabile o migliorata.

Una malattia è in progressione (PD) quando la risonanza magnetica o la tomografia computerizzata restituiscono un aumento del 25% della massa cancerosa in presenza di terapia steroidea stabile o aumentata e la clinica neurologica è ridotta.

Si parla di malattia stabile (SD) quando, almeno due mesi dopo l'inizio del trattamento, gli esami strumentali e clinico-neurologici descrivono una situazione clinica sovrapponibile a quella iniziale (AIOM, 2021).

4.4.9 Prognosi infausta

Il glioblastoma ha una prognosi nefasta. Solo pochi pazienti raggiungono i 2,5 anni di sopravvivenza dal momento della diagnosi e meno del 5% di essi sopravvive oltre i 5 (Jigisha et al., 2014). La sopravvivenza relativa per il primo anno dopo la diagnosi è del 35% e cala al 13,7% nel secondo. I primi quattro mesi del secondo anno dalla diagnosi sembrano rappresentare la finestra temporale con il picco d'incidenza di mortalità, mentre, a partire dai 2,5 anni, il rischio di decesso può diminuire fino al 50% (Jigisha et al., 2014).

I fattori che incidono sulla prognosi sono diversi e riguardano sia le caratteristiche del paziente, sia le peculiarità del glioblastoma, sia gli effetti avversi dei trattamenti somministrati. I fattori legati al paziente che contribuiscono ad un rischio di morte più significativo riguardano un'età più elevata, il sesso, la localizzazione del tumore, le caratteristiche della neoplasia all'imaging pre-operatorio, la KPS pre-operatoria e l'estensione della resezione (Lamborn et al., 2004).

Una maggiore età correla con una sopravvivenza minore a causa delle maggiori comorbidità, della minore capacità di tollerare gli insulti neurologici, la chirurgia e/o la terapia adiuvante (Krex et al., 2007). Inoltre, l'aggressività del tumore nei più anziani è associata ad un profilo genetico differente a quello del glioblastoma nel paziente con un'età inferiore a 65 anni (Rickert et al., 2001).

Gli uomini hanno un significativo vantaggio nella sopravvivenza nel primo anno post-diagnosi, ma non rimane tale dal secondo anno in poi (Jigisha et al., 2014).

Inoltre, la letteratura scientifica suggerisce che la localizzazione a livello del lobo frontale, rispetto ad altri siti, sia associata ad una migliore sopravvivenza (Simpson et al., 1993).

Anche la malattia stessa, per la sua eterogeneità fenotipica, possiede dei meccanismi di resistenza che la rendono respingente ai trattamenti somministrati (Nicholson et al., 2021). La radioterapia e la chemioterapia possono essere associate ad un'ampia gamma di complicanze, talvolta già determinate dalla malattia stessa. In particolare, possono essere presenti complicanze neurologiche a livello funzionale rilevabili da metodiche di neuroimaging, in cui sono evidenti una progressiva perdita di volume cerebrale, la malattia della sostanza bianca, complicanze neurovascolari, necrosi tissutale e tumori secondari (Nicholson et al., 2021).

La disfunzione cognitiva è uno dei problemi più comunemente riscontrati nei pazienti con tumori cerebrali, tanto che è nota per essere un fattore prognostico sfavorevole del glioma. Alla sua insorgenza concorrono anche la modalità di trattamento, i farmaci concomitanti e comorbidità preesistenti come disturbi dell'umore, affaticamento e disfunzione motoria. È caratterizzata da deficit di memoria, di attenzione/concentrazione e alterazione della funzione esecutiva.

La radioterapia può causare deterioramento cognitivo che in genere si sviluppa mesi o anni dopo il trattamento, in maniera progressiva e irreversibile. La chemioterapia, inoltre, può influenzare la funzione cognitiva e indurre cambiamenti strutturali e funzionali del cervello (Nicholson et al., 2021).

La malattia della sostanza bianca (leucoencefalopatia) è un reperto di imaging comune dopo la radioterapia, ma anche dopo la chemioterapia. I sintomi clinici includono vertigini, affaticamento, mal di testa, disturbi della memoria, difficoltà di deambulazione, cadute ricorrenti, incontinenza, tremori, convulsioni e parkinsonismo secondario. Spesso è associata ad un certo grado di atrofia

cerebrale globale irreversibile, tanto che la gestione del paziente è di supporto. Una malattia osservata nei pazienti con glioma, solitamente associata ad una perdita di volume cerebrale e alla malattia della sostanza bianca, è l'idrocefalo comunicante, una sindrome clinica caratterizzata da deterioramento cognitivo, difficoltà di deambulazione e incontinenza. (Nicholson et al., 2021).

Le malattie sia dei grandi vasi che dei piccoli vasi sono considerate le classiche complicanze cerebrovascolari indotte da radioterapia o chemioterapia e si manifestano progressivamente in eventi ischemici o emorragie. Ne sono particolarmente vulnerabili i pazienti giovani, presumibilmente a causa dell'interruzione dei normali processi di sviluppo neurologico e delle reti neurali.

I sopravvissuti a lungo termine alla radioterapia sono a rischio di sviluppo di neoplasie secondarie, compresi meningiomi, tumori alla guaina nervosa, altri tipi di gliomi e di tumori neurali (Nicholson et al., 2021).

Tutte queste complicanze sono difficili da gestire per il paziente in quanto compromettono significativamente la sua qualità di vita, poiché richiedono un loro monitoraggio costante.

Per poter intervenire su queste difficoltà, la ricerca sta conducendo studi clinici che possano fornire le basi per delineare nuovi approcci terapeutici in grado di risolverle.

4.4.10 Terapie sperimentali

Le tecniche digitali, la chirurgia di navigazione e l'intelligenza artificiale stanno venendo integrate nella gestione complessiva delle neoplasie cerebrali per migliorare la precisione, la sicurezza e l'efficacia dei piani di trattamento.

Oltre agli approcci chirurgici, radioterapici e chemioterapici, stanno iniziando ad essere utilizzati nuovi strumenti terapeutici; come la terapia mirata, che contrasta i meccanismi specifici del processo di carcinogenesi del tumore cerebrale, l'ipertermia, che riduce la massa e la quantità di cellule tumorali attraverso l'azione del calore, la brachiterapia interstiziale con particelle radioattive, che prevede l'impianto di piccole sorgenti radioattive all'interno del tessuto tumorale cerebrale mediante tecniche chirurgiche poco invasive, ed infine, l'immunoterapia (Wang et al., 2023).

L'immunoterapia funziona sfruttando il sistema immunitario del paziente per attivarne le risposte antitumorali, controllare ed eliminare le cellule neoplastiche ed invertire la soppressione immunitaria del tumore. Questa terapia rappresenta un'opzione cruciale per le neoplasie cerebrali, attraverso gli inibitori del checkpoint immunitario (ICI), gli anticorpi monoclonali anti-EFGR, la terapia con le citochine, i vaccini che sono composti da efficaci cellule dendritiche (DCV) con l'antigene in grado

di indurre risposte immunitarie, la terapia virale e i macrofagi associati al tumore (TAM) (Zhan Wang et., 2023).

Gli ICI sono tra gli immunomodulanti più efficaci impiegati in diversi tipi di tumore, in quanto bloccano i segnali inibitori del sistema immunitario e permettono alle cellule T citotossiche di riconoscere ed eradicare le cellule cancerose.

Gli anticorpi monoclonali anti-EGFR sono in grado di bloccare le numerose copie dei recettori dei fattori di crescita delle cellule tumorali, impedendo ai segnali di crescita di raggiungere la cellula.

Le citochine sono prodotte dal sistema immunitario e possono modularne le risposte; quelle più comunemente usate nella terapia del cancro sono le interleuchine e gli interferoni.

La terapia virale consiste in una forma di immunoterapia che utilizza i virus per infettare e distruggere le cellule tumorali. Quando le cellule cancerose vengono distrutte, rilasciano nuove particelle virali infettive per aiutare ad eliminare il tumore rimanente.

I TAM popolano il microambiente circostante per promuoverne la progressione e contribuiscono in modo significativo alla formazione e al mantenimento dell'immunosoppressione e della migrazione delle cellule tumorali, ma anche all'angiogenesi nel glioma. È possibile, quindi, che l'immunoterapia mirata a questa classe di macrofagi abbia un certo potenziale nel trattamento delle neoplasie cerebrali (Wang et al., 2023).

Sono necessari ulteriori studi per determinare se questi progressi nella terapia antitumorale possano effettivamente essere implementati come parte standard per il trattamento del glioma (Wang et al., 2023).

4.4.11 Cross-talk tra vie oncogeniche ed epilettogene: una possibile soluzione all'irreversibilità della neoplasia

Grazie ad evidenze cliniche che dimostrano una prognosi più favorevole dei glioblastomi epilettogeni, in quanto associati ad una diagnosi precoce e a potenziali effetti antitumorali dei farmaci antiepilettici, si sta sviluppando un crescente interesse nell'esplorare le principali interconnessioni tra l'epilettogenesi e l'oncogenesi, per scoprire nuovi bersagli farmacologici sui quali i farmaci antiepilettici possano agire. I farmaci antiepilettici più studiati sono il levetiracetam, ma soprattutto il VPA, che è diventato paradigmatico per il potenziale riposizionamento di questa categoria di farmaci nel trattamento del glioblastoma (Yagi et al., 2022).

È stato riconosciuto che il cancro e l'infiammazione progrediscono simultaneamente, in quanto un tumore induce una reazione infiammatoria e viceversa. Le cellule tumorali modulano l'espressione

di chemochine e citochine, aiutando il reclutamento di cellule infiammatorie e supportando l'espansione tumorale. D'altra parte, il glutammato viene rilasciato nelle regioni infiammate e stimola la moltiplicazione delle cellule mutate, promuovendo un microambiente infiammatorio e aumentando così il danno ossidativo del DNA ed anche la stimolazione di alterazioni sia epigenetiche che genetiche (Natale et al., 2023). Queste modifiche influenzano le vie di segnalazione che controllano la proliferazione, la sopravvivenza e le invasioni delle cellule. L'iperattivazione recettoriale del glutammato con l'inibizione GABA-ergica suggerisce una notevole ipereccitabilità dei neuroni che porta a convulsioni spontanee (Natale et al., 2023).

Lo squilibrio dei recettori eccitatori e inibitori sembra avere un ruolo nella formazione delle lesioni tumorali, l glutammato può svolgere un ruolo nella tumorigenesi e nell'invasione dei tumori, neurali e non neurali. La disfunzione del metabolismo GABA potrebbe essere un sintomo della risposta difensiva di una cellula durante la tumorigenesi.

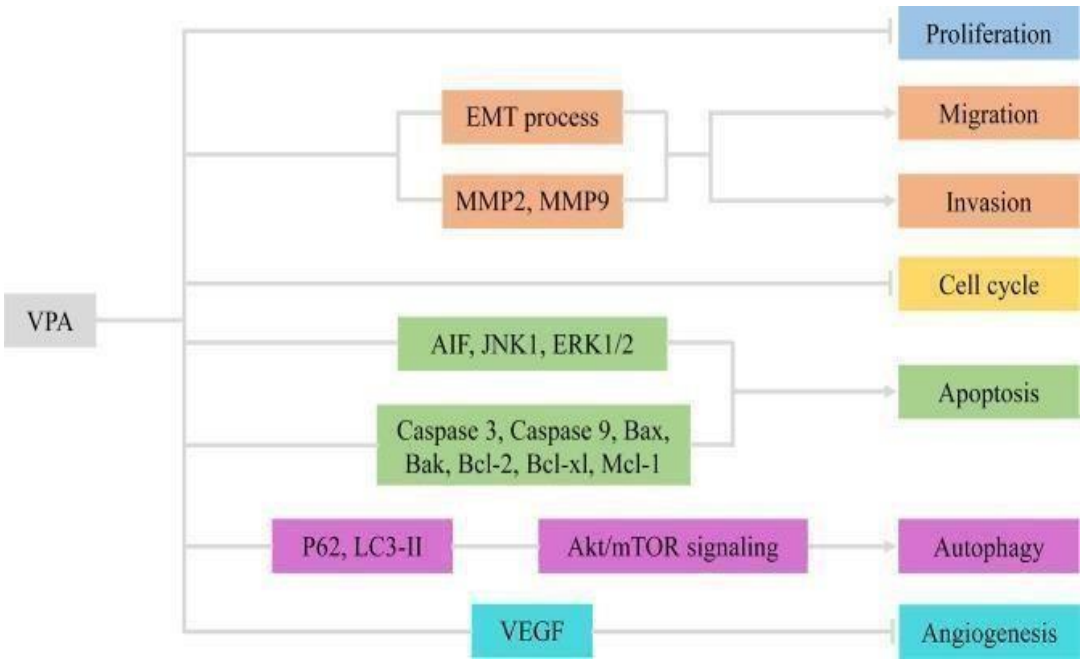
Anche i canali ionici voltaggio-dipendenti, come i canali del potassio, del calcio e del cloruro che sono modificati operativamente nelle cellule tumorali, potrebbero promuovere l'iperattività, lo sviluppo del tumore e le metastasi. Ad esempio, le attività e le modifiche dell'espressione dei canali ionici del potassio e del calcio sono state collegate ad una diminuzione della sopravvivenza dei pazienti e ad un comportamento più grave dei tumori cerebrali (Natale et al., 2023).

4.5 VPA: un farmaco antiepilettico dalle potenziali proprietà antineoplastiche nel trattamento del glioblastoma

Uno dei primi esperimenti che ha dimostrato l'inaspettata attività antiproliferativa del VPA è stato condotto sul trattamento delle cellule di neuroblastoma (NB). Questo è un tumore neuroendocrino maligno embrionario caratteristico del bambino, che deriva dalle cellule della cresta neurale da cui fisiologicamente originano la midollare del surrene ed i gangli del sistema nervoso e simpatico (Gu e Tian et al., 2012).

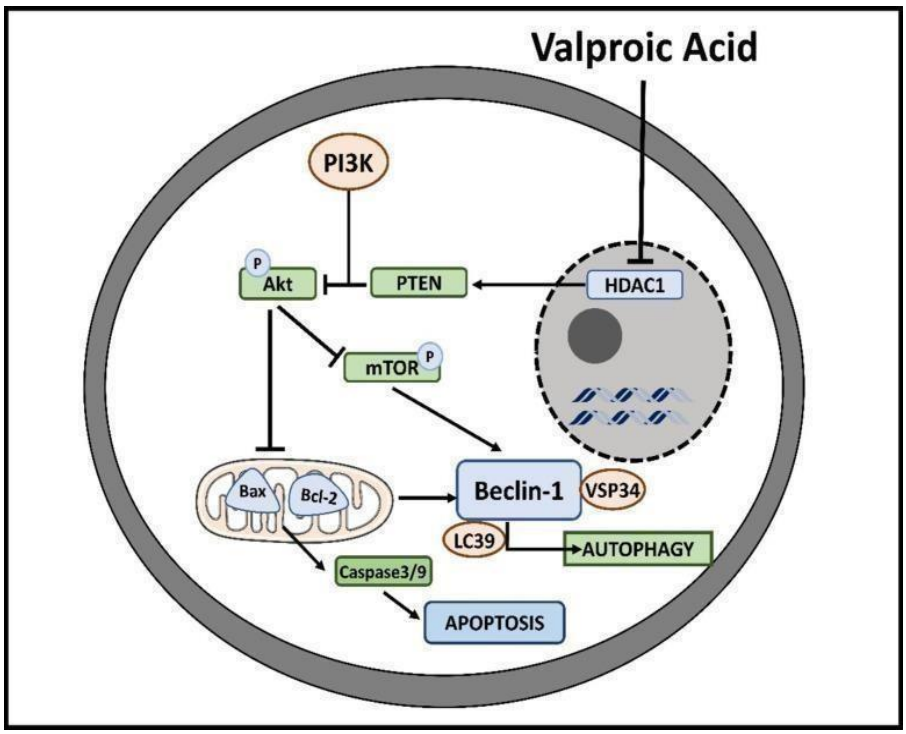
A partire da queste evidenze, sono state svolte indagini cliniche sul VPA nel trattamento anche di cellule di glioblastoma. Da questo tipo di studi clinici è stato rilevato un ruolo importante del farmaco nella cura della neoplasia, nella chemioprevenzione e/o nel controllo della malattia minima residua (Blaheta et al., 2005). È stato dimostrato che l'effetto antitumorale del VPA è dato sia dalla sua capacità di attraversare la barriera emato-encefalica, che gli permette di sconfiggere le cellule metastatiche nel SNC, sia dalla sua abilità nel modulare l'espressione genica attraverso l'inibizione degli enzimi istone deacetilasi (Natale et al., 2023). Attraverso questa azione, può correggere le modificazioni epigenetiche che caratterizzano le neoplasie, aumentando i livelli di metilazione

globale del DNA e diminuendo quelli di specifiche regioni (Gu e Tian et al., 2012). Il farmaco sottoregola, così, le vie di segnalazione che promuovono angiogenesi, proliferazione, migrazione e invasione delle cellule, favorendo la riduzione del funzionamento dei geni oncogeni (Aroosa et al., 2023) e sovraregola le vie di segnalazione ed i fattori chiave che favoriscono sia la morte cellulare sia l'induzione dell'arresto del ciclo cellulare, promuovendo l'attività dei geni oncosoppressori (Natale et al., 2023).



(Fig. 18: bersagli molecolari coinvolti negli effetti antitumorali dell'acido valproico)

Nella figura 18, riportata da "*Valproic Acid: A Promising Therapeutic Agenti in Glioma Treatment*, di Wei Han, Wei Guan et al., 2021", sono illustrati i diversi bersagli molecolari coinvolti nell'attività antitumorale del VPA, come l'inibizione della transizione epitelio-mesenchimale (EMT) e la metalloproteinasi della matrice 2/9 (MMP2 e MMP9), che sono adibiti alla migrazione e all'invasione cellulari; l'induzione di caspasi 3 e caspasi 9, Bax, Bak, Bcl–2, Bcl–xl, Mcl–2, che sono coinvolti nell'apoptosi cellulare; l'inibizione di P62, LC3–II e Akt/mTOR che sono legati all'autofagia e di VEGF che è implicato nell'angiogenesi (Han et al., 2021).

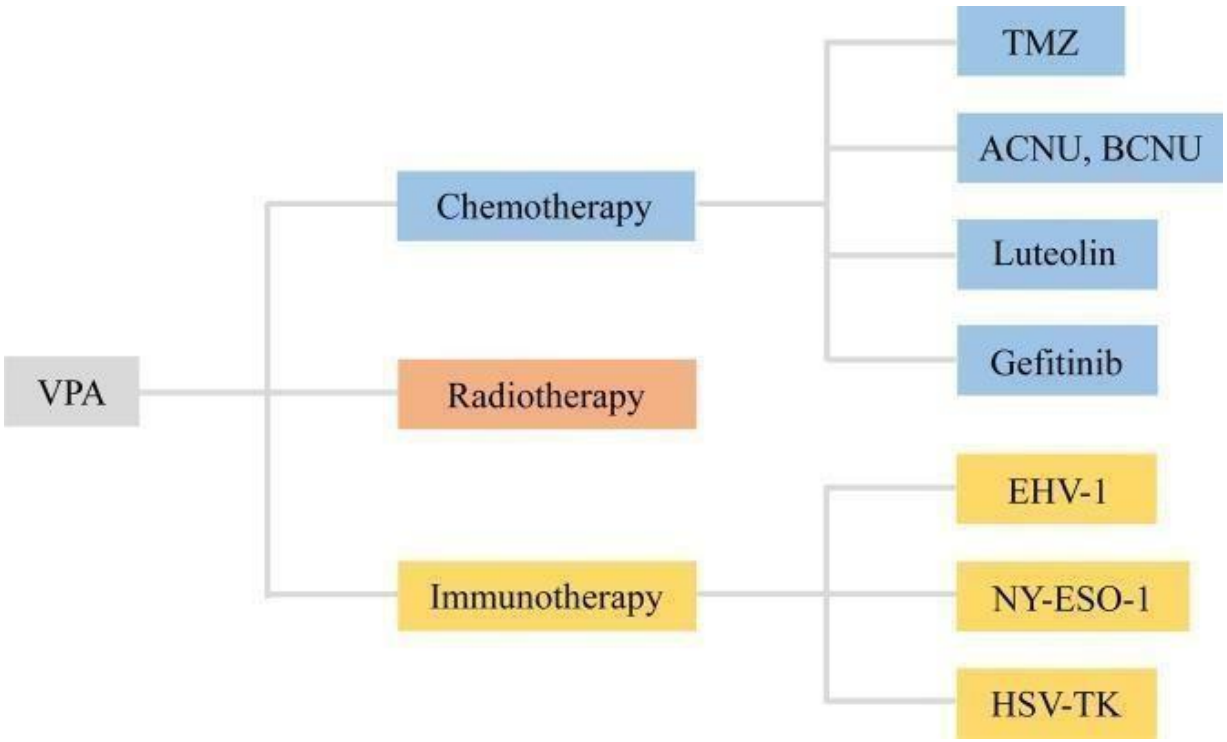


(Fig. 19: apoptosi e autofagia indotta dal coinvolgimento del VPA di una via di segnalazione)

La figura 19, riportata da *The evidence for repurposing anti-epileptic drugs to target cancer*, di Aroosa et al., 2023", illustra più dettagliatamente una delle vie di segnalazione cellulare attraverso cui l'acido valproico induce apoptosi e autofagia cellulari nelle cellule neoplastiche. Il blocco di HDAC determina l'inibizione della via di segnalazione PTEN/P13K–Akt a valle; questa disattivazione determina, a sua volta, il blocco di mTOR e delle proteine Bax e Bcl–2, promuovendo l'espressione della caspasi–3 e della caspasi–9, nonché promotori di apoptosi cellulare e di e autofagia (Aroosa et al., 2023).

4.6 VPA come agente adiuvante nel trattamento del glioma

Gli effetti nel rimodellamento della cromatina indotti dal VPA hanno suggerito di includere questo farmaco in combinazione con altri agenti chemioterapici, radioterapici e immunoterapici per potenziarne gli effetti antitumorali; come illustrato nella figura 20, riportata da "*Valproic Acid: A Promising Therapeutic Agenti in Glioma Treatment*, di Han, et al. 2021. (Han et al., 2021).



(Fig. 20: VPA come agente adiuvante nella chemioterapia, nella radioterapia e nell'immunoterapia)

4.6.1 VPA in combinazione con la chemioterapia

Dal momento che la deacetilazione degli istoni e la metilazione del DNA sono coinvolte nella resistenza alla chemioterapia, attraverso il silenziamento dei geni antitumorali riuscendo così a proteggere le cellule tumorali, gli inibitori di HDAC come il VPA possono intervenire sulla resistenza al trattamento, stimolando i geni inibitori tumorali che sono silenziati (Natale et al., 2023).

Il VPA è stato, per questo, utilizzato come agente terapeutico adiuvante per la chemioterapia del glioma, in combinazione con TMZ ma anche con nuovi composti chemioterapici, come ACNU, BCNU, luteolina e il gefitinib (Natale et al., 2023).

TMZ, un agente alchilante orale, è considerata la chemioterapia adiuvante standard grazie alla sua capacità di attraversare la barriera ematoencefalica (BBB). Esercita il suo effetto chemioterapico attraverso la metilazione della guanina, favorendo l'apoptosi cellulare. Sebbene la maggior parte dei pazienti mostri spesso un'importante risposta iniziale a questo trattamento, il tasso di risposta globale alla chemioterapia basata su di esso rimane ancora modesto, a causa dello sviluppo di resistenza ai farmaci. Pertanto, lo sviluppo di una nuova strategia di combinazione è urgentemente necessario per rafforzare l'efficacia della TMZ contro il glioma (Chen et al., 2019).

Un numero crescente di prove suggerisce che il VPA combinato con la TMZ possa migliorarne l'effetto antitumorale e aumentare la sopravvivenza globale dei pazienti (Chen, et al., 2019). Per la

risposta citotossica, la loro combinazione sopprime il tasso di sopravvivenza delle cellule tumorali, rispetto alla somministrazione del TMZ in monoterapia (Natale et al., 2023).

La combinazione, inoltre, induce la morte apoptotica delle cellule mutate, accompagnata da un aumento del danno al loro DNA, dalla deplezione intracellulare del glutatione (GSH), dalla produzione delle principali specie di ossigeno radicali citotossici (ROS mitocondriale), attraverso l'upregolazione di Bax/Bcl–2 e della caspasi-3/caspasi-3 scissa (Natale et al., 2023).

ACNU e BCNU sono indicati come comuni agenti alchilanti nitrosuree che hanno anch'essi affinità con la barriera emato-encefalica. I ricercatori hanno verificato i loro effetti inibitori diretti o indiretti su diversi tumori, tra cui quelli cerebrali (Han et al., 2021). Li et al. hanno scoperto che il VPA è in grado di potenziare gli effetti inibitori dell'ACNU sulla crescita e sull'apoptosi delle cellule MGMT-negative/positive (Han et al., 2021). Ulteriori indagini meccaniche, inoltre, hanno dimostrato che il VPA è capace di ridurre l'espressione della proteina MGMT e di promuovere la metilazione del suo promotore (Han et al., 2021).

Per quanto riguarda la BCNU, un'analisi dettagliata della combinazione di VPA e BCNU ha rivelato che l'effetto sinergico si riflette principalmente nell'inibizione della crescita cellulare e nell'arresto del ciclo cellulare piuttosto che in un aumento della loro apoptosi (Han et al., 2021).

La luteolina è un flavonoide naturale che potrebbe essere estratto dalle erbe mediche tradizionali cinesi, con una varietà di effetti farmacologici, tra i quali quelli antitumorali, attraverso effetti inibitori limitati sulle cellule di glioma. È stato dimostrato che il VPA, in associazione, ne potenzia gli effetti antitumorali nella vitalità cellulare, nella formazione di colonie, nella migrazione, nell'induzione dell'arresto del ciclo cellulare e dell'apoptosi, attraverso l'upregolazione di p-PARP/PARP, della caspasi-3 e di Bax/Bcl-2, ma anche nella promozione della risposta autofagica attivando il segnale Akt (Han et al., 2021).

È stato dimostrato che una concentrazione non tossica di VPA è coinvolta, inoltre, nella sensibilizzazione delle cellule di glioma al gefitinib, un inibitore orale della tirosin-chinasi, i cui effetti inibitori, in particolare anti-angiogenesi, sono stati ampiamente riconosciuti. L'interazione dei due composti induce una risposta autofagica (Han et al., 2021) e promuove il contrasto alla crescita cellulare e la sopravvivenza clonogenica a lungo termine, attraverso l'aumento delle specie reattive dell'ossigeno intracellulare. Inoltre, la terapia di combinazione induce una risposta autofagica (Han et al., 2021).

4.6.2 VPA in combinazione con la radioterapia

L'emergente resistenza al trattamento antitumorale è sempre più frequente anche nella radioterapia, utilizzata in oltre il 50% dei pazienti oncologici (Han et al., 2021). Pertanto, è urgente combinare una sensibilizzazione efficace per ottenere un risultato migliore. Sempre più evidenze stanno dimostrando che il VPA può aumentare sia la formazione di clonogeni a dosi variabili sia la morte cellulare apoptotica (Han et al., 2021) a partire dall'iperacetilazione degli istoni, che può rompere il doppio filamento del DNA. L'apoptosi può essere causata anche dall'inibizione della dissociazione del macchinario di riparazione (Natale et al., 2023), proteggendo al contempo le cellule e i tessuti normali dagli effetti deleteri della radioterapia, come quello della caduta dei capelli (Barker et al., 2013).

Negli ultimi anni si sta cercando di rilevare se la combinazione VPA-trattamenti chemio e radioterapici possa contribuire all'aumento della sopravvivenza dei pazienti. Tra questi, un miglioramento significativo della sopravvivenza è stato dimostrato nello studio di Reddy e colleghi, in cui l'utilizzo combinato di VPA con radioterapia, in pazienti con metastasi cerebrali dovute ad un carcinoma mammario, è sembrato permettere loro di vivere più a lungo (Reddy et al., 2015).

Nel 2011, Weller e colleghi, hanno condotto un'analisi post-hoc su pazienti con glioblastoma trattati con TMZ e radioterapia, dimostrando che l'inclusione del VPA nel programma terapeutico migliora la sopravvivenza globale mediana, rispetto a quella degli individui con glioblastoma che non hanno ricevuto alcun farmaco antiepilettico (Weller et al., 2011).

4.6.3 VPA in combinazione con l'immunoterapia

Il VPA è oggetto di studi clinici anche nella valutazione dei suoi effetti in associazione all' immunoterapia.

Studi condotti sull'associazione del VPA con il virus dell'herpes simplex (HSV-TK) hanno dimostrato che i due agenti inducono sinergicamente l'apoptosi delle cellule di glioma attraverso l'attivazione della caspasi (Han et al., 2021). Anche il successivo trattamento in vivo ha avuto gli stessi effetti, tra cui la soppressione della crescita tumorale.

I risultati dell'immunoterapia adiuvante con VPA nel glioma sono stati così soddisfacenti, da rendere funzionali ulteriori ricerche per altri agenti immunoterapici (Han et al., 2021).

4.7 Psicoterapia nei tumori cerebrali

Ogni tipo di cancro è associato a problematiche psicologiche sia specifiche, legate alla sede del tumore, sia universali, determinate dall'effetto della diagnosi e dei trattamenti antitumorali somministrati (Icardi, 2017). Tanto che dal 1982, l'European Organization for Research and

Treatment for Cancer (EORTC) ha riconosciuto la necessità di integrare nel trattamento del cancro, non solo le variabili fisiche ma anche quelle psicosociali (Di Romina, 2019).

4.7.1 Riabilitazione cognitiva nelle neoplasie cerebrali

Il paziente, in relazione al grado di malignità della neoplasia cerebrale, alla fase della malattia e al trattamento, può manifestare una compromissione progressiva delle funzioni neurologiche, disturbi cognitivi, disturbi dell'umore e disturbi della personalità.

I disturbi cognitivi e comportamentali comprendono deficit della memoria, dell'attenzione e della concentrazione, delle abilità intellettuali e del linguaggio. Queste difficoltà, a loro volta, possono essere associate a variazioni più o meno severe dell'emotività e della personalità, tali per cui il paziente può adottare comportamenti socialmente inappropriati senza averne totale consapevolezza (Dorotoni, 2022). La persona può diventare incapace di affrontare semplici attività di vita quotidiana tanto da sperimentare un forte senso di dipendenza dagli altri.

Sono per questo disponibili trattamenti riabilitativi che possono favorire un aumento dell'autonomia, dell'autostima e delle abilità sociali del paziente, contribuendo alla riduzione della sua frustrazione e al miglioramento della sua qualità di vita e di quella della sua famiglia. (Dorotoni, 2022).

Ci sono trattamenti per il ripristino delle diverse componenti dell'attenzione come l'Attention Process Training, un programma di riabilitazione dei disturbi dell'attenzione sostenuta, selettiva, alternata e divisa. (Dorotoni, 2022). Vengono utilizzati anche esercizi in grado di stimolare la flessibilità cognitiva e trattamenti riabilitativi per i disturbi delle funzioni esecutive, come il Problem Solving Training. I terapeuti, attraverso l'utilizzo di diversi strumenti, cercano di promuovere le abilità su cui si basa tale trattamento, come il pensiero critico, la creatività, la comunicazione efficace, il lavoro di gruppo, la gestione efficace del tempo, la flessibilità nel cercare nuove soluzioni e nell'accettare che alcuni problemi possano non avere una soluzione, il pensiero sistemico, la leadership, l'ascolto attivo e la curiosità.

Ci sono trattamenti atti alla riabilitazione anche dei disturbi della memoria, attraverso esercizi che stimolano il mantenimento temporaneo delle informazioni e la loro elaborazione, come il Paced Auditory Serial Addition Task (PASAT). Questo è nato come test valutativo dell'attenzione divisa uditivo – verbale che coinvolge anche l'attenzione selettiva e sostenuta e viene utilizzato oggi anche come strumento di riabilitazione di queste funzioni.

Possono essere utilizzati esercizi che permettono l'apprendimento di strategie utili alla codifica e al recupero delle informazioni, come le mnemotecniche o il metodo Preview, Question, Read, State e Test (PQRST). Quest'ultimo è un trattamento che si fonda sulla presenza, seppur compromessa, di buone strategie sia di schematizzazione sia di categorizzazione. Con la collaborazione attiva del soggetto, viene promossa una miglior codifica dell'informazione ed una sua memorizzazione più funzionale, a partire dall'analisi e dall'organizzazione logica delle informazioni contenute in un brano.

Le mnemotecniche fanno, invece, riferimento a tecniche e procedure acquisite consapevolmente, attraverso le quali è possibile ricordare in maniera più efficiente e più veloce ogni tipo di materiale, da semplici parole e numeri a storie. Il paziente, attraverso esercizi sia verbali che visivi, viene riabilitato ad un apprendimento consapevole di queste strategie.

Possono essere somministrati anche trattamenti riabilitativi per i disturbi del linguaggio, attraverso esercizi volti al miglioramento sia della produzione che della comprensione linguistica (Dorotoni, 2022). Per riabilitare l'articolazione e la fonazione vengono utilizzati esercizi specifici per migliorare la produzione dei suoni e la chiarezza del parlato, come la ripetizione di parole e frasi, esercizi di respirazione e vocalizzazione o l'utilizzo di strumenti visivi e tattili per aiutare l'articolazione. Per trattare la comprensione e l'espressione verbale vengono utilizzate attività volte a migliorare la comprensione del linguaggio parlato e la capacità di esprimersi verbalmente, attraverso l'ascolto di storie e risposte a domande, dialoghi strutturati e giochi di ruolo o esercizi di denominazione e descrizione di oggetti (Dorotoni, 2022).

Infine, ci sono trattamenti riabilitativi per i disturbi visuo–spaziali, caratterizzati da esercizi volti a implementare strategie esplorative funzionali ed efficaci, come le stimolazioni sensoriali, nelle quali la stimolazione può essere vestibolare, visiva o meccanica transcutanea Dorotoni, 2022).

4.7.2 Psicoterapia cognitiva: pioniera delle modalità di intervento psico-oncologico

La neoplasia si caratterizza come elemento scatenante di una crisi globale in cui l'ambiente psicologico e sociale cambiano, conducendo il paziente verso un clima paralizzante di isolamento, che minaccia significativamente la sua esistenza, la sua integrità, la sua identità ed il suo ruolo.

I pazienti, insieme alle famiglie, iniziano a confrontarsi con i grandi dilemmi dicotomici dell'esistenza, che la malattia oncologica inevitabilmente implica, come la vita e la morte, la salute e la malattia, il piacere e la sofferenza, la giustizia e l'ingiustizia, la condivisione e la solitudine, reagire

e subire, conoscere e scegliere di ignorare. Queste tematiche possono presentarsi in tutte le fasi del percorso assistenziale, che può svolgersi nel contesto ospedaliero, in quello territoriale o a domicilio, con il coinvolgimento di tutta la rete socio-assistenziale del paziente (Di Romina, 2019).

La psicoterapia cognitiva ha guidato la scoperta di diverse modalità di intervento che possono ridimensionare la sofferenza dei pazienti, promuovendo abilità di coping e resilienza. Una delle più recenti applicazioni è la terapia psicologica adiuvante (Adjuvant Psychological Therapy, APT), delineata da Greer e Moorey. Viene definita adiuvante perché può essere somministrata in associazione al trattamento medico. È indicata nella fase iniziale della malattia o per i pazienti con diagnosi recente di recidiva. Nel trattamento vengono rilevate le diverse modalità di far fronte agli eventi stressanti, studiando i fattori predittivi delle strategie di coping adeguate, in relazione alle componenti di personalità psicopatologiche. Un ciclo di terapia consiste in 6–12 sedute a cadenza settimanale di cinquanta minuti ognuna. Generalmente il setting è individuale, ma può essere previsto anche un intervento che coinvolge la famiglia del paziente finalizzata al miglioramento della comunicazione tra i membri (Di Romina, 2019).

Un'altra importante prospettiva della psicoterapia cognitiva consiste nell'analisi e nella promozione della resilienza. Questa fa riferimento alla capacità di adattare la prospettiva dalla quale viene esaminata la propria esistenza al variare degli avvenimenti e delle circostanze, riorganizzando positivamente la propria vita, anche di fronte alle difficoltà.

Subito dopo l'evento traumatico dato dalla diagnosi di cancro, l'intervento terapeutico è focalizzato sul sostegno del paziente e della sua famiglia, in quanto colpiti nella loro sicurezza interna. Successivamente, vengono forniti gli strumenti necessari allo sviluppo dei processi di resilienza. L'equipe curante aiuta il soggetto a formulare un obiettivo, ponendo l'accento su ciò che desidera per sé stesso e su ciò che può controllare in riferimento alle cure, favorendo una migliore aderenza alla terapia. I terapeuti cercano di promuovere un atteggiamento positivo nei confronti dei cambiamenti che la vita può indurre, attraverso la loro accettazione e il riadattamento ad essi con plasticità. Viene cercata di incentivare anche la capacità di intrattenere relazioni con l'altro, perché il sostegno altrui favorisce il benessere sia fisico che psicologico. La persona viene aiutata a rendersi consapevole del valore della propria esperienza, perché tale consapevolezza aiuta a superare le difficoltà che possono presentarsi (Di Romina, 2019). Viene insegnato al paziente a saper ricevere e capire le informazioni, perché esistono diversi studi in letteratura che evidenziano gli effetti positivi di una corretta comunicazione sui pazienti con cancro, per quanto riguarda la comprensione delle informazioni, la soddisfazione per l'assistenza ricevuta e, in generale, le modalità di adattamento alla malattia (Di

Romina, 2019). Infine, il paziente viene sostenuto nel saper ricercare il significato, anche nella malattia, affinché possa collocarla all'interno della propria storia di vita, prima per sé stesso, poi per condividerlo anche con i propri cari.

La psicoterapia cognitiva cerca di ridimensionare il significato intrinseco della patologia neoplastica, offrendo al paziente e ai suoi cari la possibilità di avere fiducia e speranza (Di Romina, 2019).

CAPITOLO QUINTO

Valutazione dell'effetto antitumorale dell'acido valproico

5.1 Obiettivo dello studio

L'obiettivo dello studio è valutare l'effetto antitumorale del VPA in un modello *in vitro* di glioblastoma, sia da solo che in combinazione con il chemioterapico TMZ. In particolare, vengono riportati risultati preliminari delle curve di sopravvivenza cellulare e del sinergismo tra VPA e TMZ.

5.2 Materiali e metodi

5.2.1 Reagenti

Le polveri di VPA e TMZ sono state acquisite dalla ditta Sigma-Aldrich. Il VPA in polvere è stato messo in soluzioni con H_2O, mentre, la TMZ è stata disciolta in dimetilsolfossido (DMSO). Per entrambi i composti sono state effettuate opportune diluizioni per ottenere le concentrazioni desiderate, come spiegato nel dettaglio più avanti.

5.2.2 Coltura cellulare

Come modello di glioblastoma è stata utilizzata la linea cellulare U-87. Le cellule sono state messe in coltura a 37 °C in un ambiente umidificato con il 5% di CO_2. Il terreno di coltura utilizzato è il Minimum Essential Medium (MEM), arricchito con il 5% di siero fetale bovino (FBS), 1 mM di sodio piruvato e antibiotici, ossia 0,1 mg/ml di streptomicina e 100 unità/ml di penicillina. Per mantenere le colture, le cellule sono state passate due volte a settimana mediante tripsinizzazione e risospensione in fiasche da 75 cm^2. Le cellule sono state seminate ad una densità di 10^4 cellule/cm^2, lasciate crescere per 24 ore e poi sottoposte al trattamento previsto per la durata dell'esperimento.

5.2.3 Vitalità cellulare

Le cellule sono state seminate in piastre da 24 pozzetti e, dopo 24 ore, sono state incubate con terreno di coltura fresco contenente i reagenti a diverse concentrazioni. Dopo 72 ore di esposizione, le cellule sono state tripsinizzate e trattate con tripan blu; quelle che escludevano la tintura sono state conteggiate come vitali. Le concentrazioni di VPA utilizzate per l'esperimento sono state 0,5 mM, 1

mM, 1,5 mM, 2 mM e 3 mM, mentre quelle di TMZ impiegate sono state 10 nM, 100 nM, 1 μM, 10 μM e 100 μM. Negli esperimenti di combinazione, il VPA è stato testato a concentrazioni di 0,001 mM, 0,01 mM, 0,1 mM, 1 mM e 10 mM. Tutti gli esperimenti sono stati condotti in triplicato, utilizzando cellule non trattate come controllo.

5.2.4 Analisi statistica

Tutti i risultati sono stati espressi come media ed errore standard. La significatività statistica è stata valutata mediante analisi della varianza (ANOVA), seguita dal test post-hoc di Dunnett. L'analisi dei dati e la creazione dei grafici di dose-risposta sono stati realizzati utilizzando GraphPad Prism 5. Il sinergismo tra VPA e TMZ, invece, è stato calcolato con il software CalcuSyn, sviluppato da Chou e Talalay (1983).

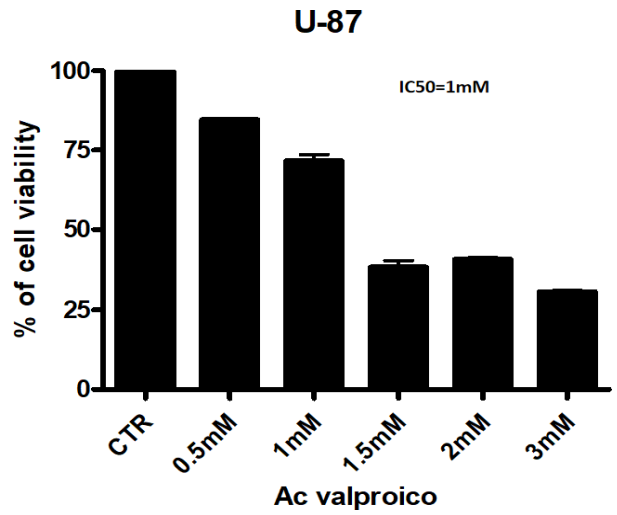
5.3 Risultati e discussione

5.3.1 Effetto sulla vitalità cellulare del VPA da solo e in combinazione con la TMZ

Le cellule della linea U-87 di glioblastoma sono state trattate con concentrazioni crescenti di VPA, di TMZ e di entrambi i composti per valutare la loro tossicità. La vitalità cellulare è stata analizzata mediante conta delle cellule dopo 72 ore di incubazione, utilizzando le cellule non esposte come controllo.

Per quanto riguarda la TMZ, l'IC_{50} è stata calcolata a 15 μM, in linea con quanto riportato da studi precedenti sulla stessa linea cellulare. In particolare, in uno studio di Jun e colleghi l'IC_{50} della TMZ è stata calcolata a 21.2 ± 12.5 μM (Jun et al., 2007), mentre in un altro studio di Vaglini et al. l'IC_{50} a 72 ore dal trattamento è stata calcolata a11.36 ± 3.14 μM (Vaglini et al., 2018). Similmente, in studi su altre linee cellulari di glioblastoma, come le linee A172 e LN229, sono stati riportati valori di IC_{50} rispettivamente di 14,1 ± 1,1 μM e 14,5 ± 1,1 μM (Perazzoli et al., 2015). Risultati comparabili sono stati osservati da Gaspar et al., che hanno trovato valori di IC_{50} per le linee A172, LN229, SF268 e Res259 compresi tra 10 e 20 μM/L (Gaspar et al., 2010). Inoltre, studi successivi di Yoshino et al. hanno evidenziato IC_{50} inferiori a 100 μM per la TMZ per le linee A172, U-87MG e U-251MG (Yoshino et al., 2010).

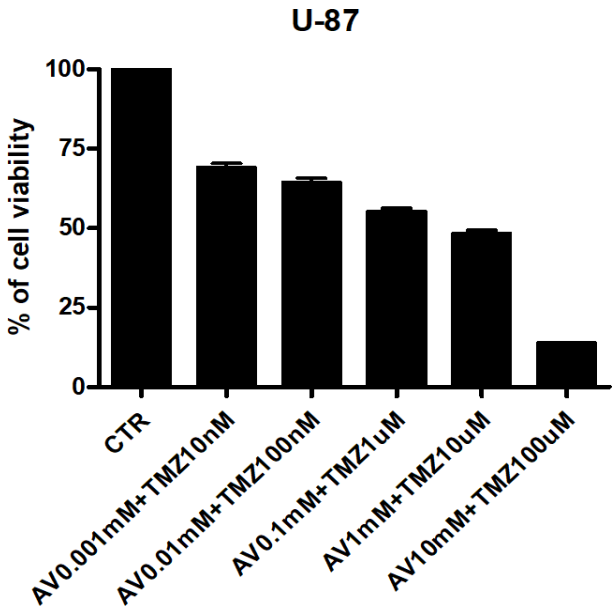
Come si può vedere dal grafico della figura 21, per quanto riguarda il VPA, invece, l'IC_{50} è risultata a 1 mM.



(Fig. 21: indice di vitalità cellulare del VPA)

Già nel 1985, osservazioni *in vitro* hanno dimostrato che il VPA inibisce l'indice mitotico della linea cellulare G6 del glioma di ratto, con un IC_{50} di 0,5 mM (Regan, 1985). Studi successivi hanno evidenziato che una concentrazione di 1 mM di VPA, utilizzata nella coltivazione continua delle cellule di glioma C6, provoca un'inibizione della loro crescita (Gonzales et al., 2008). In ulteriori osservazioni *in vitro* su tre linee cellulari di glioblastoma, T98G, U251 e U-87MG, sono stati riscontrati effetti antiproliferativi del VPA, con IC_{50} rispettivamente di 1,4, 1,0 e 1,3 mM (Eckert et al., 2017).

Nella combinazione di VPA e TMZ si è osservata una significativa riduzione della sopravvivenza cellulare. Come si può vedere, dal grafico della figura 22, alla concentrazione più alta (VPA 10 mM + TMZ 100 μM) la vitalità cellulare era inferiore al 20%.

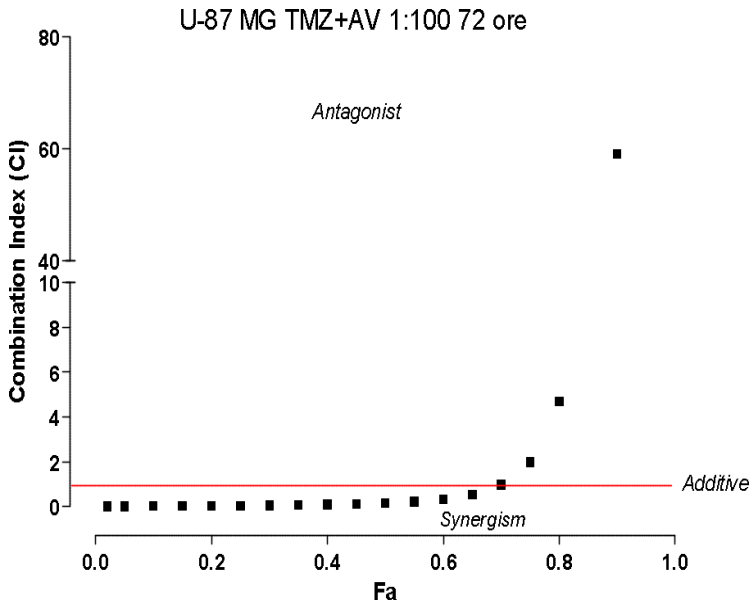


(Fig. 22: indice di vitalità cellulare del VPA + TMZ)

La terapia combinata di VPA e TMZ è stata associata con una migliore sopravvivenza nei pazienti con glioblastoma anche in studi clinici in vivo. Kerkhof et al., in uno studio su 108 pazienti con la neoplasia, hanno suggerito che la combinazione di VPA e TMZ per tre mesi sia correlata ad un significativo aumento della sopravvivenza rispetto ai pazienti trattati con TMZ in monoterapia (Kerkhof et al., 2013). In un altro studio, condotto a Taiwan, 2379 pazienti con glioblastoma in terapia con TMZ sono stati suddivisi in due gruppi: il gruppo VPA, che riceveva VPA in associazione alla TMZ e il gruppo non-VPA che, invece, continuava con la sola TMZ. I pazienti sono stati seguiti per quindici anni o fino alla morte. I risultati hanno mostrato che il gruppo VPA era caratterizzato da un tempo medio di sopravvivenza globale più lungo rispetto al gruppo non-VPA, in particolare con un valore di overall survival (OS) pari a 50,3 ± 41,0 mesi vs 42,0 ± 37,2 mesi; con una differenza significativa nei pazienti di età compresa tra 18 e 40 anni in cui il valore di OS era pari a 70,5 ± 48,7 mesi vs 55,1 ± 46,0 mesi (Kuo et al., 2020).

5.3.2 Effetto sinergico di VPA e TMZ

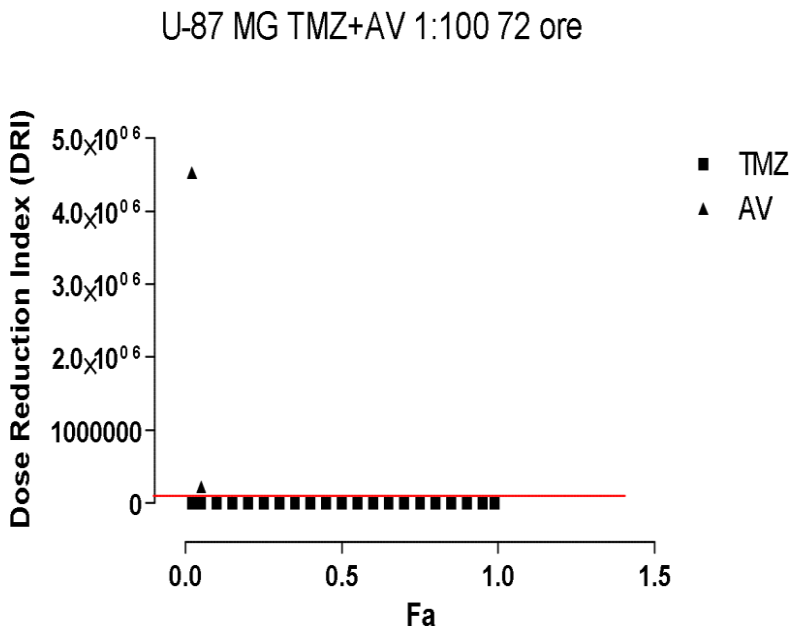
Come illustrato nel grafico della figura 23, la combinazione di TMZ e VPA ha mostrato una forte azione sinergica sulle cellule U-87, con un indice di combinazione inferiore a 1, fino al 70% della frazione affetta.



(Fig. 23: effetto sinergico del VPA con la TMZ)

Il sinergismo ottenuto dalla combinazione del VPA con la TMZ ha prodotto un effetto antiproliferativo paragonabile a quello atteso dalla somma degli effetti delle sostanze somministrate singolarmente. In letteratura non sono presenti molti studi sul potenziale effetto sinergico del VPA e della TMZ. Hosein et al., in un'indagine clinica su campioni di tessuto di glioblastoma estratti da pazienti, non ha osservato un effetto sinergico tra VPA, TMZ e radioterapia, ma è stato evidenziato un effetto additivo. I migliori risultati ottenuti trattando i tessuti con VPA prima delle radiazioni, mostrando un potenziale per l'utilizzo di VPA nel trattamento del glioblastoma (Hosein et al., 2015).Il potenziale effetto sinergico di VPA con la TMZ sulle linee cellulari U-87MG di glioma è stato rilevato invece dallo studio condotto da Chen et al., in cui il trattamento concomitante ha indotto sinergicamente l'apoptosi, potenziando l'effetto della TMZ in monoterapia (Chen et al., 2011). Effetti sinergici tra i due composti sono stati osservati anche nello studio sull'interazione tra VPA, TMZ e radiazioni γ, nel quale sono state utilizzate due linee cellulari di glioma, D384 e T98. La combinazione delle due sostanze ha determinato un aumento della citotossicità ed un incremento della risposta alle radiazioni, rispetto agli effetti ottenuti dalla somministrazione del VPA da solo (Van Nifterik et al., 2012). Un effetto antitumorale significativamente potenziato è stato osservato, inoltre, nelle linee cellulari U138 di glioma maligno resistenti alla TMZ. *In vitro*, la combinazione di questi farmaci ha aumentato la morte cellulare apoptotica e autofagica, riducendo anche le attività migratorie. Gli esperimenti in vivo hanno anche mostrato che il trattamento combinato può inibire significativamente la crescita tumorale, rispetto ai gruppi di monoterapia (Ryu et al., 2012). Questi risultati suggeriscono, quindi, che l'associazione TMZ/VPA può essere un potente agente contro il glioma maligno, anche per le linee cellulari resistenti alla TMZ. Ciò rende possibile una riduzione

della dose mantenendo l'efficacia, minimizzando così, potenzialmente, la tossicità e gli effetti avversi. Come si può vedere dal grafico della figura 24, i calcoli dell'indice di riduzione della dose hanno mostrato la possibilità di ridurre sensibilmente il dosaggio di VPA in combinazione con la TMZ, mentre, la dose della TMZ non può essere ridotta sotto al valore della IC_{50}.



(Fig. 24: indice di riduzione del VPA e della TMZ)

5.3.3 Limiti dello studio

I dati raccolti sono preliminari, quindi necessitano di ulteriori esperimenti per essere confermati. In particolare, non è ancora stato individuato il meccanismo con cui il VPA possa esercitare il suo effetto sinergico in combinazione con la TMZ. Per questo dovranno essere effettuati ulteriori esperimenti, come l'individuazione sia di cambiamenti dell'espressione di proteine di interesse, sia di modifiche nell'espressione genica. La natura *in vitro* dell'esperimento non permette, inoltre, di studiare a fondo la complessità del microambiente tumorale. Nonostante questi limiti, che confermano la necessità di ulteriori studi, i risultati preliminari ottenuti sono promettenti, in quanto suggeriscono il potenziale ruolo antitumorale del VPA.

CONCLUSIONI

Il VPA è stato introdotto nella pratica clinica circa sessanta anni fa come farmaco antiepilettico e oggi viene utilizzato per il trattamento di diverse forme di epilessia, nella profilassi dell'emicrania e nel trattamento del disturbo bipolare, nel quale viene somministrato per trattare fasi manicali e depressive delle forme atipiche e complicate, ma anche casi di comorbilità, ad esempio, con disturbi d'ansia e disturbo da uso di sostanze.

Il meccanismo d'azione di questo farmaco è complesso e non del tutto chiarito. Sono però stati descritti effetti sulla glutammato decarbossilasi, sul trasportatore del GABA, sui canali ionici ed effetti epigenetici basati sull'inibizione dell'istone deacetilasi.

Negli ultimi anni, per un intervento più tempestivo e personalizzato, la progressione nella comprensione dell'eziopatogenesi delle malattie e le strategie di riposizionamento farmacologico hanno permesso di ipotizzare gli effetti neuroprotettivi del VPA nel trattamento di altre condizioni cliniche, tra cui alcune patologie neurodegenerative, infettive ed oncologiche. In particolare, l'utilizzo del farmaco sembra essere promettente per il trattamento di alcune neoplasie del sistema nervoso centrale, come il glioblastoma multiforme. Questo è caratterizzato ad oggi da una prognosi infausta, anche per il ritardo nella diagnosi e perché associato ad un alto tasso di recidive sia per la variabilità fenotipica della malattia stessa, sia per gli effetti avversi correlati ai trattamenti convenzionali somministrati.

Alcune forme di glioblastoma, con l'avanzare della malattia, presentano crisi epilettiche. In questi casi, è adeguato affiancare alle terapie antitumorali un trattamento anticonvulsivante. Diversi studi in letteratura hanno evidenziato come tali forme di glioblastoma, una volta trattate con antiepilettici come il VPA, siano correlate ad una maggiore sopravvivenza. La progressione simultanea del cancro con l'epilessia ha permesso di studiare i possibili effetti antitumorali dei farmaci antiepilettici, soprattutto del VPA che, per la sua azione antiproliferativa sulle cellule mutate, è diventato paradigmatico per il potenziale riposizionamento di questa categoria di farmaci, nel trattamento della neoplasia cerebrale.

Nella nostra sperimentazione, lo studio *in vitro* è stato condotto utilizzando la linea cellulare U-87 di glioblastoma, in cui l'efficacia antiproliferativa del VPA è stata rilevata sia nel suo utilizzo in monoterapia sia in associazione con la TMZ. Dalla loro combinazione è emerso, inoltre, un effetto sinergico fino al 70% della frazione affetta, in grado di potenziare l'efficacia dei due farmaci somministrati singolarmente.

Gli esiti ottenuti sono preliminari; pertanto, è necessario condurre ulteriori indagini per confermare il potenziale utilizzo del VPA in ambito oncologico. Ciononostante, le evidenze cliniche raccolte riguardo all'effetto del farmaco sul glioblastoma hanno suggerito la possibilità di un'attività antiproliferativa anche su altre linee cellulari tumorali, come le neoplasie maligne del sangue, il carcinoma epatocellulare, il cancro alla prostata, il cancro alla mammella, il cancro alla tiroide e, infine, il carcinoma endometriale. Queste scoperte consentono, pertanto, di affrontare con maggiore fiducia l'opportunità di impiegare il VPA anche per le patologie più gravi.

BIBLIOGRAFIA

Annunziato, L. (2018). Trattato di Farmacologia. Napoli, Edizioni Idelson-Gnocchi.

Aroosa, M. et al. (2023). The evidence for repurposing anti-epileptic drugs to target cancer. Molecular Biology Reports, 50(9), 7667-7680.

Atagun, M. I. e Oral, T. (2021). Acute and long term treatment of manic episodes in bipolar disorder. Noropsikiyatri Arsivi. Archives of Neuropsychiatry, 58 (1), S24–S30.

Barker, C.A. et al. (2013). Valproic acid use during radiation therapy for glioblastoma associated with improved survival. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 86(3), 504-9.

Barnholtz-Sloan, Q. et al. (2011). Current State of Our Knowledge on Brain Tumor Epidemiology. Curr Neurol Neurosci Rep, 11 (3), 329-335.

Bartlomiej, S. e Nurowska, E. (2017). Valproic acid inhibits TTX – resistant sodium currents in prefrontal cortex pyramidal neurons. Biochemical and biophysical Research Communications, 491(2), 2291-295.

Berendsen, S. et al. (2016). Prognostic relevance of epilepsy at presentation in glioblastoma patients. Neuro Oncol, 18(5), 700-6.

Bielecka, A. M. e Obuchowicz, E. (2008). Antiapoptotic action of lithium and valproate. Pharmacological review, 60(6), 771-82.

Biso L. et al. (2023). A 5-Year Study of Antiseizure Medications (ASMs) Monitoring in Patients with Neuropsychiatric Disorders in an Italian Clinical Center. Pharmaceuticals,16(7), 945.

Blaheta, R. A. et al. (2005). Valproic acid shows a potent antitumor effect with alteration of DNA methylation in neuroblastoma. Anticancer Drugs. Author Manuscript. Peer reviewed and accepted for publication by a journal, 23(10), 1054-66.

Blaheta, R. A. e Cinatl, J. J. (2014). Anti-tumor mechanisms of valproate: A novel role for an old drug. Medicinal Research Reviews, 22(5), 492-511.

Bourin, M. (2020). Mechanism of action of Valproic Acid and Its Derivatives. SOJ Pharmacy & Pharmaceutical Sciences, 7(1), 1-4.

Carli, M. et al. (2023). Pharmacological Strategies for Bipolar Disorders in Acute Phases and Chronic Management with a Special Focus on Lithium, Valproic Acid, and Atypical Antipsychotics. Current Neuropharmacology, 21(4), 935-950.

Chambless, L. et al. (2015). The relative value of postoperative versus preoperative Karnofsky Performance Scale scores as a predictor of survival after surgical resection of glioblastoma multiforme. J Neurooncol, 121, 359-364.

Chen, C. H. et al. (2011). Enhancement of temozolomide-induced apoptosis by valproic acid in human glioma cell lines through redox regulation. J Mol Med (Berl), 89(3), 303-15.

Chen, J.C. et al. (2019). Valproic acid-induced amphiregulin secretion confers resistance to temozolomide treatment in human glioma cells. BMC Cancer, 488(7412), 522–526.

Chiu, C.T. et al. (2013). Therapeutic Potential of Mood Stabilizers Lithium and Valproic Acid: Beyond Bipolar Disorder. Pharmacological Reviews, 32(12), 1433-45.

Cucchiara, F. et al. (2020). Epileptogenesis and oncogenesis: an antineoplastic role for antiepileptic drugs in brain tumours? Pharmacological Research, 156, 104786.

Eckert, M. et al. (2017). Cellular Effects of the Antiepileptic Drug Valproic Acid in Glioblastoma. Cellular Physiology and Biochemistry, 44, 1591-1605.

Filev, A.D. et al. (2021). The effect of valproic acid on the transcriptional activity of Ngf and Bdnf genes of in vitro cultured neurons under oxidative stress conditions. International Journal of biology and biomedical engineering, Volume 15.

Gaspar, N. et al. (2010). MGMT-independent temozolomide resistance in pediatric glioblastoma cells associated with a PI3-kinase-mediated HOX/stem cell gene signature. Cancer Res, 70(22), 9243–52.

Gąssowska-Dobrowolska, M. et al. (2021). Alterations in Tau Protein Level and Phosphorylation State in the Brain of the Autistic-Like Rats Induced by Prenatal Exposure to Valproic Acid. International Journal of Molecular Sciences, 15(3), 4671-713.

Ghodke-Puranik, Y. et al. (2013). Valproic acid pathway: pharmacokinetics and pharmacodynamics. Pharmacogenet Genomics, 23(4), 236-41.

Gonzales, A. D. (2008). Valproic Acid as an Epigenetic Drug for Cancer: Preclinical, Clinical, and Transcriptional Effects on Solid Tumors. Cancer Treatment, 34(3), 206-222.

Han, W. e Guan, W. (2021). Valproic Acid: A Promising Therapeutic Agent in Glioma Treatment. Frontiers in Oncology, 10(11), 687362.

Hanaya, R. e Arita, K. (2016). The new antiepileptic drugs: their neuropharmacology and clinical indications. Neurol Med Chir (Tokyo), 56(5), 205-20.

Happold, C. et al. (2016). Does Valproic Acid or Levetiracetam Improve Survival in Glioblastoma? A Pooled Analysis of Prospective Clinical Trials in Newly Diagnosed Glioblastoma. J Clin Oncol, 34(7), 731-9.

Hegi, M. E. e Stupp, R. (2015). Withholding temozolomide in glioblastoma patients with unmethylated MGMT promoter--still a dilemma? Neuro Oncol,17(11),1425-1427.

Jenkins, E. et al., (2010), "Venous thromboembolism in malignant gliomas". J Thromb Haemost, 8(2), 221-227.

Jeong, M. R. et al. (2003). Valproic acid, a mood stabilizer and anticonvulsant, protects rat cerebral cortical neurons from spontaneous cell death: a role of histone deacetylase inhibition. FEBS Letters, 542(1–3), 74-78.

Johannessen, C.U. (2000). Mechanisms of action of valproate: a commentatory. Neurochemistry International, 37(2–3),103-110.

Kerkhof, M. et al. (2013). Effect of valproic acid on seizure control and on survival in patients with glioblastoma multiforme. Neuro Oncol, 15(7), 961-7.

Kerkhof, M. et al. (2019). Withdrawal of antiepileptic drugs in patients with low grade and anaplastic glioma after long-term seizure freedom: a prospective observational study. J Neurooncol, 142(3), 463-470.

Knudseen-Baas, K. M. et al. (2021). Antiseizure medication in patients with Glioblastoma- a collaborative cohort study, 87, 107-113.

Knudsen-Baas, K. M. et al. (2016). Does the choice of antiepileptic drug affect survival in glioblastoma patients? J Neurooncol, 129(3), 461-469.

Knudsen-Baas, K. M. et al. (2018). Antiepileptic and psychiatric medication in a nationwide cohort of patients with glioma WHO grade II-IV. J Neurooncol, 140(3), 739-748.

Krauze, A. V. et al. (2023). Revisiting Concurrent Radiation Therapy, Temozolomide, and the Histone Deacetylase Inhibitor Valproic Acid for Patients with Glioblastoma-Proteomic Alteration and Comparison Analysis with the Standard-of-Care Chemoirradiation. Biomolecules, 13(10), 1499.

Krex, D. et al. (2007). Long-term survival with glioblastoma multiforme. Brain,130(10), 2596-606.

Kumamaru, E. et al. (2014). Valproic acid selectively suppresses the formation of inhibitory synapses in cultured cortical neurons. Neuroscience Letters, 569,142-147.

Kuo, Y. J. (2020). Effect of valproic acid on overall survival in patients with high-grade gliomas undergoing temozolomide. A nationwide population-based cohort study in Taiwan. Medicine, 99(28), 21147.

Kuo, Y. J. et al. (2020). Effect of valproic acid on overall survival in patients with high-grade gliomas undergoing temozolomide: A nationwide population-based cohort study in Taiwan. Medicine (Baltimore), 99(28), 21147.

Lamborn, K. et al. (2004). Prognostic factors for survival of patients with glioblastoma: recursive partitioning analysis. Neuro. Oncol, 6, 227-235.

Lapointe, S. et al. (2018). Primary brain tumours in adults. Lancet Lond. Engl, 392, 432-446.

Lee, C. Y. et al. (2016). The effects of antiepiletics drugs on the growth of glioblastoma cell lines. Journal of Neuro-Oncology, 127, 445-453.

Li, X. et al. (2012). Review of Pharmacological Treatment in Mood Disorders and Future Directions for Drug Development. Neuropsychopharmacology Reviews, 37(1), 77-101.

Liang, D. et al. (2012). The role of intraoperative magnetic reso- nance imaging in glioma surgery. Surg Neurol, 3(4), S320–S327.

Liu, J. e Wang, L.N. (2020). Efficacy and safety of valproic acid in dementia: A systematic review with meta – analysis. Archives of Gerontology and Geriatrics, 89, 104091.

Long, Z. M. et al. (2015). Valproic Acid Modifies Synaptic Structure and Accelerates Neurite Outgrowth Via the Glycogen Synthase Kinase – 3B Signaling Pathway in an Alzheimer's Disease Model. CNS Neuroscience & Therapeutics, 21(11), 887-97.

Lu, V. M. et al. (2018). The survival effect of valproic acid in glioblastoma and its current trend: a systematic review and meta-analysis. Clinical Neurology and Neurosurgery, 174, 149-155.

Luis, D. N. et al. (2016). The World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. Acta Neuropathol, 131(6), 803-820.

Manali, T et al. (2021). Receptor Tyrosine Kinase Signaling and Targeting in Glioblastoma Multiforme. International Journal of molecular sciences, 22(4),1-35.

Mhaimeed, N. et al. (2022). Pharmacokinetic mechanisms underlying clinical cases of valproic acid autoinduction: a review. Journal of Affective Disorders Reports, 10, 100426.

Michaelis, M. et al. (2007). Valproic Acid As Anti – Cancer Drug. Current Pharmaceutical Design, Volume 13(33), 3378-3393.

Natale, G. et al. (2023). Valproate and lithium: Old drugs for new pharmacological approaches in brain tumors? Cancer Letters, 560, 216125.

Nath, M. e Gupta, V. (2023). The Effects of Chronic Treatment with the Mood Stabilizers Valproic Acid and Lithium on Corti etjournals.cotropin-Releasing Factor Neuronal Systems. Pharmacological Reviews, 305(2), 434-9.

Nicholson, J.G. e Fine, H. A. (2021). Diffuse Glioma Heterogeneity and Its Therapeutic Implications. Cancer Discov, 11(3), 575-590.

Ornoy, A. et al., (2023). Valproic acid in pregnancy revisited: neurobehavioral, biochemical and molecular changes affecting the embryo and fetus in humans and in animals: a narrative review. International Journal of molecular sciences, 25(1), 390.

Orringer, D. et al. (2012). Neuronavigation in the surgical management of brain tumors: current and future trends. Expert Rev Med Devices, 9(05), 491-500.

Ostrom, Q. T. et. al. (2015). CBTRUS Statistical Report: Primary Brain and Central Nervous System Tumors Diagnosed in the United States in 2008-2012. Oncology, 4(4), iv1-iv62.

Ostrom, Q.T. et al. (2014). The epidemiology of glioma in adults: a “state of the science” review. Neuro oncology, 16(7), 896-913.

Owens, M. J. e Nemeroff, C. B. (2003). Pharmacology of valproate. Psychopharmacol Bull, 37(2), 17-24.

Perazzoli, G. et al. (2015). Temozolomide Resistance in Glioblastoma Cell Lines: Implication of MGMT, MMR, P-Glycoprotein and CD133 Expression. PLoS, 10(10), 0140131.

Perry, A. e Wesseling, P. (2016). Histological Classification of Gliomas. Handbook of clinical neurology, 134, 71-95.

Phiel, C.J. et al. (2001). Histone Deacetylase is a direct target of valproic acid, a potent anticonvulsant, mood stabilizer and teratogen. The Journal of Biological Chemistry, 276(39), 36734-41.

Qi, Z. et al. (2013). Exogenous and endogenous hormones in relation to glioma in women: a meta-analysis of 11 case-control studies. PloS One, 8(7), 68695.

Reddy, J. P. et al. (2015). Antiepileptic drug use improves overall survival in breast cancer patients with brain metastases in the setting of whole brain radiotherapy. Radiother. Oncol, 117, 308-314.
Redjal, N. et al. (2016). Valproic acid, compared to other antiepileptic drugs, is associated with improved overall and progression-free survival in glioblastoma but worse outcome in grade II/III gliomas treated with temozolomide. J Neurooncol, 127(3), 505-14.

Regan, C. M. (1985). Therapeutic levels of sodium valproate inhibit mitotic indices in cells of neural origin. Brain Res. 347(2), 394-8.

Regan, M. C. (1985). Therapeutic levels of sodium valproate inhibit mitotic indices in cells of neural origin. Brain Res, 347(2), 394-8.

Rickert, C. et al. (2001). Pediatric high-grade astrocytomas show chromosomal imbalances distinct from adult cases. Am J Pathol, 158, 1525-32.

Rigamonti, A. et al. (2018). Antiepileptic treatment and survival in newly diagnosed glioblastoma patients: Retrospective multicentre study in 285 Italian patients. J Neurol Sci, 15(390), 14-19.

Romoli, M. et al. (2019). Valproic Acid and Epilepsy: From Molecular Mechanisms to Clinical Evidences. Current Neuropharmacology, 17(10), 926-946.

Rosenzweig, I. et al. (2012). Neuroconnectivity and valproic acid: The Myelin hypothesis. Neuroscience & Biobehavioral Reviews, 36(8),1848-1856.

Roth, P. et al. (2015). Corticosteroid use in neuro-oncology: an update. Neurooncol Pract, 2(1), 6-12.

Ruda, R. et al. (2016). Does valproic acid affect tumor growth and improve survival in glioblastomas? CNS Oncology, 5(2), 51-3.

Ryken, T. C. et al. (2015). The role of radiotherapy in the management of patients with diffuse low grade glioma: A systematic review and evidence-based clinical practice guideline. J Neurooncol, 125(3), 551-83.

Ryken, T. et al. (2010). The role of steroids in the management of brain metastases: a systematic review and evidence-based clinical practice guideline. J Neurooncol, 96(1), 103-114.

Ryken, T. et al. The role of imaging in the management of progressive glioblastoma. A systematic review and evidence-based clinical practice guideline. J Neurooncol, 118, 435-460.

Ryu, C. H. et al. (2012). Valproic Acid Downregulates the Expression of MGMT and Sensitizes Temozolomide-Resistant Glioma Cells. Journal of Biomedicine and Biotechnology.

Ryu, J. Y. et al. (2019). Effect of anti-epileptic drugs on the survival of patients with glioblastoma multiforme: A retrospective, single-center study. PLoS One, 14(12), 0225599.

Safdar, A. e Ismail, F. (2023). A comprehensive review on pharmacological applications and drug-induced toxicity of valproic acid. Saudi pharmaceutical journal, 31(2), 265-278.

Salvador, E. et al. (2014). Glucocorticoids and endothelial cellbarrier function. Cell Tissue Res. 355(3), 597-605.

Samudra, N. et al. (2019). Seizures in glioma patients: An overview of incidence, etiology, and therapies. J Neurol Sci, 404, 80-85.

Sànchez-Villalobos, J. M. et al. (2022). Epilepsy treatment in neuro-oncology: A rationale for drug choice in common clinical scenarios. Front Pharmacol, 13, 991244.

Schäfer, M. e Brandl, E. J. (2022). Mood Stabilizers. Valproate. Neuropsychopharmacoterapy, 1549-1557.

Schipmann, S. et al. (2019). Markers for Identifying and Targeting Glioblastoma Cells during Surgery. J Neurol Surg, 80, 475-487.

Seliem, R. et al. (2003). Fine-needle aspiration biopsy of the central nervous system performed freehand under computed tomography guidance without stereotactic instrumentation. Cancer, 99, 277-84.

Shete, S. et al. (2011). Genome-Wide High-Density SNP Linkage Search for Glioma Susceptibility Loci: Results from the Gliogene Consortium. Cancer Res, 71, 7568–7575.

Simò, M. et al. (2012). Impact of antiepileptic drugs on thrombocytopenia in glioblastoma patients treated with standard chemoradiotherapy. Journal of neuro-oncology, 108, 451-8.

Simpson, J. et al. (1993). Influence of location and extent of surgical resection on survival of patients with glioblastoma multiforme: results of three consecutive Radiation clinical trials. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 26, 239-244.

Song, G. et al. (2012). Valproic acid shows potent antitumor effect with alteration of DNA methylation in neuroblastoma. Author Manuscript. Peer Reviewed and accepted for publication by a journal, 23(10), 1054-66.

Stupp, R. et al. (2005). Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma. N Engl J Med, 352(10), 987-998.

Stupp, R. et al. (2012). NovoTTF-100A versus physician's choice chemotherapy in recurrent glioblastoma: a randomised phase III trial of a novel treatment modality. Eur. J Cancer, 48(14), 2192-2202.

Stupp, R. et al. (2017). Effect of Tumor-Treating Fields Plus Maintenance Temozolomide vs Maintenance Temozolomide Alone on Survival in Patients With Glioblastoma: A Randomized Clinical Trial. JAMA, 318(23), 2306–2316.

Suchorska, B. et al. (2016). Complete resection of contrast-enhancing tumor volume is associated with improved survival in recurrent glioblastoma-results from the DIRECTOR trial. Neuro Oncol. 2, 18(04), 549-556.

Sun, L. e Coy, D. H. (2002). Anti-Convulsant Drug Valproic Acid in Cancers and in Combination Anti-Cancer Therapeutics. Modern Chemistry & Applications.

Tang, J.Y. e Kiang, T.K.L. (2017). Pharmacokinetic interactions between valproic acid and lorazepam (PIVOtAL Study): a review of site – specific practices. The Canadian Journal of Hospital Pharmacy, 70(3),171-178.

Thakkar, J. P. et al. (2014). Epidemiologic and Molecular Prognostic Review of Glioblastoma. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 23(10), 1985-96.

Thakkar, J. P. et al. (2014). Epidemiologic and molecular prognostic review of glioblastoma. Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention, 23(10), 1985-1996.

Tom, M.C. et al. (2019). Management for Different Glioma Subtypes: Are All Low-Grade Gliomas Created Equal? Am Soc Clin Oncol Educ Book, 39, 133-145.

Tsai, H. C. et al. (2012). Effect of valproic acid on the outcome of glioblastoma multiforme. Br J Neurosurg, 26(3), 347-54.

Tsai, L. K. et al. (2010). The Mood Stabilizers Valproic Acid and Lithium Enhance Mesenchymal Stem Cell Migration via Distinct Mechanisms. Neuropsychopharmacology, 35, 2225–2237.

Van Nifterik, K. A. et al. (2012). Valproic acid sensitizes human glioma cells for temozolomide and γ-radiation. J Neurooncol, 107(1), 61-7.

Vanbreemen, M. S. et al. (2009). Efficacy of anti-epileptic drugs in patients with gliomas and seizures. J Neurol, 256,1519-1526.

Verrotti, A. et al. (2018) The pharmacological management of Lennox – Gastaut syndrome and critical literature review. Seizure QUI, 17(10), 926-946.

Wang, Z. et al. (2023). Clinical Advances and Future Directions of Oncolytic Virotherapy for Head and Neck Cancer. Cancers, 15(21), 5291.

Watanabe, S. et al. (2017). Valproic acid reduces hair loss and improves survival in patients receiving temozolomide-based radiation therapy for high-grade glioma. Eur J Clin Pharmacol, 73(3), 357-363.

Watts, C. et al. (2014). Current concepts in the surgical management of glioma patients. Clin. Oncol, 26, 385-94.

Weiss, F. et al. (2023). Triple Diagnosis of Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder with Co-existing Bipolar and Alcohol Use Disorders: Clinical Aspects and Pharmacological Treatments. Current Neuropharmacology, 21(7), 1467-1476.

Weller M. et al. (2011). Prolonged survival with valproic acid use in the EORTC/NCIC temozolomide trial for glioblastoma. Neurology, 77(12), 1156-64.

Weller, M. et al. (2014). MGMT Promoter Methylation Is a Strong Prognostic Biomarker for Benefit from Dose-Intensified Temozolomide Rechallenge in Progressive Glioblastoma: The DIRECTOR Trial. Clinical cancer research: an official journal, 21(9), 2057-2064.

Weller, M. et al. (2015). GLIOMA. Nature Reviews/Disease Primers,1(15017), 1-18.

Wen, P. et al. (2020). Glioblastoma in Adults: A Society for Neuro-Oncology (SNO) and European Society of Neuro-Oncology (EANO) Consensus Review on Current Management and Future Directions. Neuro-Oncology, 22(8):1073-1113.

Wick, W. G. et al. (2017). Lomustine and Bevacizumab in Progressive Glioblastoma. N Engl J Med, 377(20), 1954-1963.

Wirshing, H. et al. Glioblastoma. Handbook of Clinical Neurology, 134(3d series), 381-397.

Ximenes, J.C.M. et al. (2012). Valproic Acid, a Drug with Multiple Molecular Targets Related to Its Potential Neuroprotective Action. Neuroscience &Medicine, 3(1).

Xu, S. et al. (2020). Immunotherapy for glioma: Current management and future application. Cancer Lett, 476, 1-12.

Yagi, C. et al. (2022). Anti-tumor effects of anti-epileptic drugs in malignant glioma cells. Oncol Rep, 48(6), 216.

Yalin, N. e Young, A. H. (2020). Pharmacological Treatment of Bipolar Depression: what are the current and emerging options? Neuropsychiatric Disease and Treatment, 9(16), 1459-1472.

Yoshino, A. et al. (2010). Gene expression profiling predicts response to temozolomide in malignant gliomas. Int J Oncol, 36(6), 1367–77.

Young, R. et al. (2015). Current trends in the surgical management and treatment of adult glioblastoma. Annals of Translational Medicine, 3(9), 1-15.

Yuan, P. X. et al. (2001). The Mood Stabilizer Valproic Acid Activates Mitogen-activated Protein Kinases and Promotes Neurite Growth. The Journal of Biological Chemistry, 276(34), 31674-83.

Yuile, P. et al. (2006). Survival of glioblastoma patients related to presenting symptoms, brain site and treatment variables. J Clin Neuroscience, 13, 747-751.

Jun, H.T. et al. (2007). a fully human anti-hepatocyte growth factor/scatter factor neutralizing antibody, enhances the efficacy of temozolomide or docetaxel in U-87 MG cells and xenografts. Clinical cancer research: an official journal of the American Association for Cancer Research, 13(22), 6735-6742.

Vaglini, F. et al. (2018). Melanocortin Receptor-4 and Glioblastoma Cells: Effects of the Selective Antagonist ML00253764 Alone and in Combination with Temozolomide In Vitro and In Vivo. Molecular neurobiology, 55(6), 4984–4997.

Hosein, A. N. et al (2015). The effect of valproic acid in combination with irradiation and temozolomide on primary human glioblastoma cells. *Journal of neuro-oncology*, 122(2), 263–271.

SITOGRAFIA

AIOM (2021). Linee guida neoplasie cerebrali 2021. https://snlg.iss.it/wpcontent/uploads/2021/10/LG_266_neoplasie_cerebrali_agg_2021.pdf

AIRC **(2018).** Cancro: la cura. https://www.airc.it/cancro/affronta-la-malattia/guida-alle-terapie/cancro-la-cura

AIRC (2018). Gli strumenti a disposizione. https://www.airc.it/cancro/affronta-la-malattia/guida-alle-terapie/cancro-la-cura

AIRC (2023). Geni, familiarità e cancro. https://www.airc.it/cancro/informazioni-tumori/cose-il-cancro/geni-familiarita-cancro

AIRC (2024). I fattori di rischio. https://www.airc.it/cancro/informazioni-tumori/cose-il-cancro/cause-del-cancro

AIRC (2024). Il ruolo dei geni. https://www.airc.it/cancro/informazioni-tumori/cose-il-cancro/cause-del-cancro

Di Romina, E. M. (2017). La Psicoterapia Cognitiva nel cancro: guarire l'anima al di là della chemioterapia. State of mind. https://www.stateofmind.it/2017/02/psicoterapia-cognitiva-trattamento-cancro/

EMA (2024). Rischio potenziale di disturbi del neurosviluppo in bambini nati uomini trattati con medicinali contenenti valproato: il PRAC raccomanda misure precauzionali. Aifa. https://www.aifa.gov.it/documents/20142/2209305/2024.01.12_com-EMA_valproato_IT.pdf

Dorotoni, V. (2017). Riabilitazione Neuropsicologica nei tumori cerebrali. Studio psicoterapia dorotoni. https://www.studiopsicoterapiadorotoni.it/riabilitazione-neuropsicologica-nei-tumori-cerebrali/

Icardi, L. (2017). Le problematiche psicologiche dei tumori cerebrali. Laura Icardi. https://www.lauracardi.it/2017/09/27/le-problematiche-psicologiche-dei-tumori-cerebrali/